This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

QR
41
H8

1886

Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
GIFT OF
U C Anat. dept.
Class
BIOL.
LIBRARY

Digitized by Google

DIE

Pathologisch-Histologischen und Bacteriologischen

UNTERSUCHUNGS-METHODEN

mit einer Darstellung der wichtigsten

BACTERIEN

VON

Dr. KARL HUBER UND Dr. ARNO BECKER

IN LEIPZIG.

Mit 13 Abbildungen im Text und 2 farbigen Tafeln.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

LEIPZIG,

VERLAG VON F. C. W. VOGEL.

1886.

Separatabdruck aus **Birch-Hirschfeld's Lehrbuch der Allgemeinen Pathologischen Anatomie.** 3. Auflage. 1886. 10 M.

Digitized by Google

Digitized by Google

DIE

Pathologisch-Histologischen und Bacteriologischen

UNTERSUCHUNGS-METHODEN

mit einer Darstellung der wichtigsten

BACTERIEN

VON

Dr. KARL HUBER UND Dr. ARNO BECKER

IN LEIPZIG.

Mit 13 Abbildungen im Text und 2 farbigen Tafeln.

LEIPZIG,

VERLAG VON F. C. W. VOGEL.

1886.

Digitized by Google

QH541
H8
BIOLOGY
LIBRARY

Das Uebersetzungsrecht ist vorbehalten.

Digitized by Google

INHALTSVERZEICHNISS.

Seite

Vorwort 1

I. Pathologisch-histologischer Theil von Dr. Karl Huber.

Einleitung 3

A. HILFSMITTEL.

I. *Das Mikroskop* 3
II. *Schneide- und Präparirinstrumente* 5
1. Das Rasir- oder Schneidemesser. 5
2. Das Doppelmesser 6
3. Das Mikrotom 6
4. Präparirmesser 8
5. Scheeren 8
6. Pincetten 8
7. Präparirnadeln 9
8. Spatel 9
III. *Glasgegenstände* 9
1. Objectträger 9
2. Deckgläschen 9
3. Schalen 9
4. Uhrschälchen 9
5. Präparirnadeln 9
6. Pipetten 9
7. Flasche für Canadabalsam mit langem Stöpsel 9
8. Spirituslampe 9
IV. *Weitere Utensilien* 9
Pinsel, Kork, Nägel, Flüssiger Leim, Präparatenetiquetten, Präparatenschachtel, Leinwandläppchen, Reagentienständer 9
Apparat für künstliche Beleuchtung 10

B. REAGENTIEN.

I. *Destillirtes Wasser* 10
II. *Kochsalzlösung* 10
III. *Alkohol. Aether* 11
IV. *Säuren* 11
1. Essigsäure 11
2. Salzsäure 11
3. Schwefelsäure 11
4. Salpetersäure 11
5. Chromsäure 11
6. Osmiumsäure 12
7. Pikrinsäure 12

179837

Digitized by Google

Seite

V. *Alkalien* 12
Kali. Natron. Ammoniak 12
VI. *Sublimat* 12
VII. *Jod und Jodkalium* 12

C. VORBEREITENDE METHODEN.

I. *Erhärtung* 12
1. Alkohol 13
2. Chromsäure und ihre Salze 13
3. Salpetersäure 14
4. Pikrinsäure 14
5. Sublimat 14
II. *Kochmethode* 14
III. *Methode des Eintrocknens* 15
IV. *Schliffemachen* 15
V. *Entkalkung* 15
VI. *Entfettung* 16
VII. *Einbettung* 16
VIII. *Injection* 18
IX. *Künstliche Verdauung* 18
X. *Corrosions-Methode* 18
XI. *Verfahren des Auspinselns und Ausschüttelns* 18

D. FARBSTOFFE UND FARBETECHNIK.

I. *Kernfärbung* 20
1. Bismarckbraun (Vesuvin) 20
2. Gentianaviolett 20
3. Rubin-Fuchsin 20
4. Alauncarmin 20
5. Boraxcarmin 21
6. Pikrolithioncarmin 21
7. Saures Carmin 21
8. Pikrocarmin 22
9. Hämatoxilin 22
II. *Die Färbungen der Mikroorganismen* 22
1. Methode der Ueberfärbung und des langdauernden Auswaschens in Alkohol und Nelkenöl 24
2. GRAM'sches Verfahren 25
3. Methode der isolirten Bacterienfärbung nach KOCH 25
4. Universalbacterien-Färbung nach LÖFFLER 26
5. Aufzählung der für die einzelnen Mikroorganismen charakteristischen Färbemethoden 26
a) Cholera asiatica 26
b) Hühnercholera 26
c) Diphtherie 26
d) Erysipel 26
e) Lepra 27
f) Milzbrand, Osteomyelitis, Pyämie, Puerperalfieber, Endocarditis ulcerosa, Rheumatismus articul. acutus (Gelenkeiter) 27
g) Pneumonie-Kokken 27
h) Recurrens 27
i) Rotz 27
k) Septicämie der Mäuse und Kaninchen 27

Digitized by Google

Seite

l) Syphilis . . . 27
m) Tuberkel-Bacillen . . . 28
n) Typhus abdominalis . . . 29
o) Actinomykose . . . 29
p) Schimmelpilze . . . 30
6. Sporenfärbung . . . 30

III. *Färbungen des Protoplasma und bestimmter kernloser Substanzen* . . . 31
1. Beale'sches Carmin und carminsaures Ammoniak . . . 31
2. Eosin . . . 31
3. Pikrinsäure . . . 32
4. Nigrosin . . . 32
5. Chinolinblau . . . 32

IV. *Doppelfärbungen* . . . 32
V. *Darstellung der Kerntheilungsfiguren* . . . 33
VI. *Metallsalze* . . . 34
1. Goldmethode . . . 34
2. Imprägnation mit Silbersalzen . . . 35
3. Osmiumsäure . . . 36

VII. *Weitere chemische Stoffe* . . . 37
1. Schwefelammonium . . . 37
2. Jod mit seinen Reactionen . . . 37
Cholestearin. Glycogen . . . 38
Amyloidreaction . . . 39
Eleïdin . . . 41

E. DARSTELLUNG VON MIKROSKOPISCHEN PRAPARATEN.

I. *Am frischen Objecte* . . . 41
II. *Am gehärteten Präparate* . . . 42
III. *Am eingebetteten Objecte* . . . 43

F. UNTERSUCHUNGSMETHODEN EINZELNER ORGANE.

I. Blut . . . 43
1. Darstellung der Häminkrystalle . . . 43
2. Färbung der eosinophilen Zellen . . . 43

II. *Drüsige Organe* . . . 44
III. *Haut* . . . 44
IV. *Herz- und Circulationsapparat* . . . 44
V. *Knochensystem* . . . 44
VI. *Lunge* (Fettembolie) . . . 45
VII. *Schleimhäute* . . . 45
VIII. *Nervensystem* . . . 45
1. Gehirn und Rückenmark . . . 45
2. Periphere Nervenfasern . . . 47
3. Nervenendigungen . . . 47

IX. *Plasma- oder Mastzellen* . . . 47

G. AUFHELLUNGS- UND CONSERVIRUNGSSTOFFE.

I. *Aufhellungsstoffe* . . . 48
II. *Conservirungsmittel* . . . 48
1. Glycerin . . . 48
2. Glycerinleim . . . 49
3. Canadabalsam . . . 49
4. Damarlack . . . 49

Digitized by Google

Seite
5. Colophonium 49
6. Levulose und Zuckersyrup 49
7. Gummischleim. Jodglycerin. Jodgummi 49
8. Essigsaures Kali 49
9. Lösungen von Sublimat, von Chromsäure und chromsauren Salzen, sowie von arseniger Säure 49

H. CONSERVIRUNGSWEISE.

Verfahren der definitiven Conservirung 50

II. Bacteriologischer Theil von Dr. Arno Becker.

Untersuchungsmethoden . . . . . 51—72
Einleitung 51
1. Mikroskopischer Nachweis der Bacterien . . . . . 51—55
Ausstattung der Mikroskope 52
Trocken- oder Deckglaspräparat 53
Sporenfärbung 54
Untersuchung im ungefärbten Zustand 55
2. Isolirung und Reinzüchtung der Bacterien . . . . . 55—69
Desinfection, Sterilisirung 56
vermittelst Glühens und trockener Hitze 57
= Heisswasserdampfes 58
Discontinuirliches Sterilisiren 59
Filtration 60
Bacteriencultivirung 60
Fleischwasserpeptongelatine 61
Plattencultur 62
Objectträgercultur 63
Stich- und Strichcultur 64
Agar-Agar 65
Blutserum 67
Kartoffel 68
Nährflüssigkeiten 69
3. Uebertragung der Bacterien aus Reinculturen . . . . . 70—72
Uebersicht der nothwendigen Apparate 72

Zusammenstellung der wichtigsten, jetzt bekannten Bacterien . . . . 72—122
A. *Saprophyten* . . . . . 72—84
a) Kugelförmige Bacterien . . . . . 72—76
1. Micrococcus prodigiosus 72
2. = aurantiacus, chlorinus, luteus, fulvus 74
3. = ureae Cohn 75
4. Leuconostoc mesenterioides 75
5. Sarcinen 76
b) Stäbchenförmige Bacterien . . . . . 76—83
1. Bacterium aceti 76
2. = merismopoedioides 77
3. = Termo 77
4. = Proteus vulgaris, mirabilis, Zenkeri 77
5. Bacillus subtilis 78
6. = Ulna 79
7. = Megaterium 79
8. = Fitzianus 79

Digitized by Google

Seite

9. Kartoffelbacillus 79
10. Bacillus acidi lactici 80
11. = caucasicus 80
12. = butyricus 81
13. = cyanogenus 81
14. Bacillen des Trinkwassers (B. violaceus, ruber, grüngelber, fluorescens, albus, gasbildender) 82
15. Wurzelförmiger Bacillus aus Erde 83
16. Bacillus erythrosporus 83

c) Schraubenförmige Bacterien . . . . . 83—84
1. Vibrio Rugula 83
2. Spirillum plicatile 83
3. Spirillum von Denecke im Käse 83

B. *Parasiten* . . . . . 84—122
a) Kugelförmige Bacterien . . . . . 84—95
1. Micrococcus haematodes 84
2. = pyaemiae der Kaninchen 84
3. = der progressiven Abscessbildung bei Kaninchen . . 85
4. = der acuten infectiösen Osteomyelitis, staphylococcus pyogenes aureus 85
5. Staphylococcus pyogenes albus 86
6. Micrococcus pyogenes tenuis 86
7. Mastitispilz 86
8. Micrococcus pneumoniae crouposae 87
9. Pneumokokken ähnlicher Bacillus 88
10. Micrococcus gonorrhoeae 89
11. = tetragenus 90
12. = der Lungenseuche der Rinder 90
13. Sarcina ventriculi 91
14. Streptococcus bombycis 91
15. = perniciosus 92
16. = der progressiven Gewebsnekrose der Mäuse . . . 92
17. = erysipelatis 92
18. = pyogenes 93
19. = diphtheriticus 93
20. = febris puerperalis 94
21. Micrococcus ascoformans Johne 94

b) Stäbchenförmige Bacterien . . . . . 95—117
1. Leptothrix buccalis 95
2. Bacillus Milleri „ε“ 95
3. = „Trommelschläger“ Birnstock 96
4. = Briegeri 96
5. Bacterium Zopfii 96
6. Bacillus indicus 97
7. = pyocyaneus 97
8. = anthracis 98
9. = oedematis maligni 100
10. = des Rauschbrandes 101
11. = der Mäusesepticämie 101
12. = des Schweinerothlaufes 103
13. = der Kaninchensepticämie 103
14. Bacterium der Schweineseuche 104
15. Bacillus der Hühnercholera 104
16. Bacterium der „Wild- und Rinderseuche“ 105
17. Bacillus tuberculosis 105
18. = leprae 108

Digitized by Google

Seite

19. Bacillus mallei 108
20. = typhosus 109
21. = malariae 111
22. = diphtheriticus 111
23. = xerosis epithel. conjunctivae 112
24. = des Tetanus 113
25. = alvei 113
26. = des Rhinoscleroms 114
27. = der Syphilis 114
28. = der Vaguspneumonie 115
29. = der „englischen Pocke“ 115
30. = cholerae asiat. Emmerich 116

c) Schraubenförmige Bacterien . . . . . 117—122

1. Bacillus cholerae asiaticae Koch 117
2. = von Finkler und Prior 120
3. Spirochaete buccalis 121
4. = Obermeieri 121

Schluss 122

Digitized by Google

VORWORT.

Nachstehende kleine Abhandlung erscheint als Separatausgabe aus Birch-Hirschfeld's Lehrbuch der pathologischen Anatomie III. Auflage. Bezüglich des pathologisch-histologischen Theiles wurde der Zweck verfolgt, dem auch weniger Geübten einen verlässlichen Leitfaden, wie er bei pathologisch-histologischen Untersuchungen zu verfahren hat, an die Hand zu geben. Die mikroskopische Technik ist in neuester Zeit so sehr vervollkommnet worden, wir sind im Besitze einer Zahl trefflicher, im Grunde häufig dasselbe leistender Methoden, dass es dem Anfänger oft schwer wird, sich für diese oder jene zu entscheiden. Darum wurde es als specielle Aufgabe erachtet, in Anordnung und Behandlungsweise des Stoffes, ganz besonders aber in der Angabe der einzelnen Vorschriften dem praktisch Wichtigen in erster Linie Rechnung zu tragen, überhaupt dabei diejenigen Gesichtspunkte zur Geltung zu bringen, welche dem Verfasser im Laufe der Jahre aus eigener Erfahrung als die zweckmässigsten erschienen sind. Desshalb wird Mancher dieses oder jenes, nicht minder zu Empfehlende, kürzer als er es wünschte, berührt, Anderes vielleicht gar weggelassen finden. Einen besonderen Werth glaubte Verfasser auf eine genaue Beschreibung und möglichst präcise Angaben legen zu müssen, selbst auf die Gefahr hin der Kleinlichkeit geziehen zu werden. Wenn dieselben vielfach auch nur relativen Werth besitzen, so geben sie wenigstens eine bestimmte Direktive an die Hand, wie man im gegebenen Falle zu verfahren hat. Gerade in einer wohlausgebildeten Methodik liegt ein gut Theil des Geheimnisses der feineren mikroskopischen Technik.

Der bakteriologische Theil soll in möglichster Kürze die wesentlichsten Gesichtspunkte der Koch'schen Untersuchungsmethoden zusammenfassen, um dem Anfänger als Leitfaden, dem Geübteren zum Nachschlagen bei den Untersuchungen zu dienen. Bei der Behandlung des mikroskopischen Nachweises von Mikroorganismen konnte sich der Verfasser in Rücksicht auf die vorangehende pathologisch-histologische Abhandlung auf einige wenige der Bakterienuntersuchung besonders zukommende Punkte beschränken. Die Sterili-

Digitized by Google

sirungs- und Kultivirungsmethoden, wie sie zur Zeit allgemein Verwendung finden, sind möglichst bequem zusammenzustellen versucht worden; an sie schliesst sich noch ein Ueberblick über die gebräuchlichsten Arten der Thierinfektion an.

In Bezug auf die Zusammenstellung der jetzt bekannten Bakterien glaubt der Verfasser insofern einem fühlbaren Mangel abgeholfen zu haben, als nur wenige zweckentsprechende, mit Abbildungen der Kulturen aber überhaupt keine Werke zur Verfügung stehen. Der Vorwurf der Unvollständigkeit wird ja auch dieses Werkchen treffen, jedoch bietet die hier wieder gegebene Anzahl von Bakterien dem Anfänger schon hinreichend Material, um die Differenzen des Wachsthums derselben kennen zu lernen. Ueber die Morphologie, Biologie und Systematik der Bakterien im Allgemeinen handeln bereits andere Kapitel des Lehrbuches, weshalb an dieser Stelle nicht näher darauf eingegangen zu werden braucht.

Leipzig, im April 1886.

Dr. Huber. Dr. Becker.

Digitized by Google

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

I.

Pathologisch-histologischer Theil

von

Dr. Karl Huber.

EINLEITUNG.

Unerlässliche Vorbedingung für ein erspriessliches mikroskopisches Arbeiten ist Reinlichkeit und Sauberkeit. Man kann in dieser Beziehung nicht peinlich genug sein. Manche unangenehme Erfahrungen und Täuschungen bleiben dadurch erspart. Der Arbeitstisch muss stets sauber gehalten sein, Deckgläschen, Objectträger, Schalen müssen vor dem jedesmaligen Gebrauche frisch gereinigt werden; nicht minder sind die übrigen Utensilien rein und staubfrei zu halten, besonders gilt dies von dem Mikroskop und Mikrotom. Ersteres sollte, sobald es nicht mehr benutzt wird, unter eine Glasglocke gestellt oder wenigstens in seinen Behälter zurückgebracht werden. Für das Mikrotom ist zu diesem Behufe die Beschaffung eines aus starker Pappe verfertigten Kastens, der, so lange dasselbe nicht in Anwendung gezogen wird, darüber gestülpt bleibt, sehr zu empfehlen. Besondere Sorgfalt ist auf Zubereitung und Instandhalten der Reagentien resp. Farbflüssigkeiten zu verwenden. Sobald irgendwie Verdacht auf Zersetzung derselben vorhanden ist, sind sie von Frischem zuzubereiten. Bei öfterem Gebrauche ein und derselben Lösung ist jedesmal zuvoriges Filtriren nöthig. Zur Anstellung der chemischen Reactionen, insbesondere aber der Färbungen, bediene man sich geräumiger Schalen und vor allem reichlicher Flüssigkeit; man darf in dieser Beziehung nicht zu sparsam sein. Die Schnitte müssen sorgfältig und vollständig ausgebreitet in dem Fluidum liegen und vollkommen in dasselbe eingetaucht sein; weiter darauf zu achten ist, dass sie niemals auf-, sondern stets neben einander ihre Lage haben. Auch das Einbringen in aufhellende Agentien, sowie die Conservirung hat in subtilster Weise zu geschehen.

A. HILFSMITTEL.

Das erste und unentbehrlichste Hilfsmittel ist

I. das Mikroskop.

Betreffs einer eingehenderen Schilderung der Zusammensetzung und Behandlung desselben verweise ich auf die einschlägigen Lehrbücher, besonders auch der normalen Histologie. Hier soll nur kurz nochmals in Erinnerung gebracht werden, dass stets vor dem Gebrauche desselben man sich zu vergewissern hat, ob daselbst alles in Ordnung ist: Linsen und Oculare, Spiegel und Objecttisch frei von Verunreinigung sind. Das zu untersuchende Object wird der vorläufigen Orientirung halber zuerst mit schwächeren Vergrösserungen angesehen, an welche sich dann, wenn nöthig, alsbald die Untersuchung mit progressiv

Digitized by Google

stärkeren Systemen und Ocularen zu schliessen hat. Dabei ist das Wechseln der Diaphragmen, eventuell des Beleuchtungsapparates, eine verschiedene Einstellung des Spiegels, die unter Umständen sich nöthig machende Betrachtung im auffallenden Lichte u. s. w. nicht ausser Acht zu lassen.

Ein noch besonders wichtiger Punkt ist der, nach welchen Maximen man bei dem Erwerb eines Mikroskopes zu verfahren hat. Darüber lässt sich kurz Folgendes sagen: Ist dasselbe für wissenschaftliche Untersuchungen bestimmt, gilt es, damit feinere Studien über Zellen- und Kernstructur, sowie über Mikroorganismen anzustellen, so ist unbedingt ein reicher ausgestattetes, complicirter zusammengesetztes Instrument nöthig, insbesondere stärkere Linsensysteme und Immersionen, darunter hauptsächlich Oelimmersionen. Noch weiter erforderlich sind Nebenapparate: vor allem der ABBE'sche Beleuchtungsapparat, der zur Erleichterung der Arbeit nicht zu entbehrende Revolver zum Anschrauben der Systeme, ein Mikrometer, gewöhnlich in Form des Ocularmikrometers, eine Lupe. Nächstdem kommen in Betracht ein Zeichenprisma, ein Spectroskop, Polarisationsapparat, ein erwärmbarer Objecttisch, ein Apparat zum Zählen von Blutkörperchen und Photographiren u. s. w.

Für denjenigen, der nur seiner Ausbildung halber oder des späteren Gebrauchs in der Praxis wegen ein Instrument nöthig hat, bedarf es keines von dieser compendiösen Zusammenstellung. Für ihn sind solche kleineren Baues, einfacherer Zusammensetzung, vollkommen ausreichend. Auch hier möchte ich der grösseren Bequemlichkeit wegen, welche das Arbeiten damit gewährt, den keineswegs theueren Revolver-Apparat, sofern er an dem Stativ anzubringen ist, wohl empfehlen.

Handelt es sich speciell um Untersuchung von Mikroorganismen, so kommt noch weiter die Beschaffung einer homogenen oder Oelimmersion in Betracht. Dass dieselbe zum Zweck wissenschaftlich-bacteriologischer Forschung eines der unentbehrlichsten Hilfsmittel bildet und durch kein anderes System zu ersetzen ist, ist eine durch die Erfahrung bestätigte und allgemein anerkannte Thatsache. Es fragt sich nur, ob statt derselben nicht nöthigen Falls hohe Trockensysteme in Verbindung mit einem ABBE'schen Beleuchtungsapparate ausreichen. Ich möchte dies entschieden verneinen, und auch demjenigen, welchem es nur um den diagnostischen, resp. differential-diagnostischen Nachweis bereits bekannter Organismenformen zu thun ist, den Rath geben, die allerdings nicht unerheblichen Mehrkosten, welche die Anschaffung eines derartigen Systemes verursacht, keineswegs zu scheuen und sich dasselbe unbedingt zu erwerben. Sonst lieber sich auf derartige Untersuchungen gar nicht einlassen, sondern dieselben Fachleuten zuweisen! Genaue Kenntniss in der Handhabung dieser Linsensysteme, die grosse Subtilität erfordert, ist Grundbedingung für ein sicheres und erspriessliches Arbeiten und kann nur durch vorherige Uebung erworben werden. Ein ABBE'scher Beleuchtungsapparat in Verbindung damit sollte niemals fehlen.

Die Oelimmersionen rathe ich nur von den zuverlässigsten und ersten Firmen zu beziehen, wenn auch der Kostenpunkt sich höher stellt, als bei manch' anderen derartigen Geschäften. ZEISS in Jena, dessen Instrumente, sowohl was Ausstattung wie Güte der Vergrösserungen und Nebenapparate betrifft, gegenwärtig unbestritten den ersten Rang einnehmen, stellt solche in vorzüglicher Qualität, wenn auch etwas kostspielig dar. Die in neuerer Zeit zu billigem Preise verschiedentlich empfohlenen Bacterienmikroskope mit Oelimmersionen sind mit Vorsicht aufzunehmen.

Es gibt im In- und Auslande ausser Genanntem eine Zahl renommirter optischer Institute, welche solide und sorgfältig gearbeitete und in jeder Beziehung preiswerthe Instrumente liefern. Unter den einheimischen führe ich an: ENGELBERT und HENSOLDT in Wetzlar, HARTNACK in Potsdam, LEITZ in Wetz-

Digitized by Google

lar, MERTZ in München, SEIBERT und KRAFFT in Wetzlar, WÄCHTER in Berlin, WINCKEL in Göttingen. Unter ausländischen sind zu nennen: REICHERT in Wien, NACHET und VERIK in Paris und ROSS in London. Aus eigener Erfahrung empfehlen kann ich ausser den Oelimmersionen von ZEISS noch die von HARTNACK, SEIBERT und KRAFFT, LEITZ, REICHERT. Ein sehr gutes Trockensystem ist F von ZEISS; auch System 9 von HARTNACK und 8 von LEITZ sind, was Helligkeit und Auflösungsvermögen betrifft, allen Anforderungen entsprechend.

Als besonders zweckmässig zum mikroskopischen Arbeiten habe ich Instrumente folgender Zusammenstellung gefunden:

A. Für speciellere Studien in erstgenanntem Sinne von ZEISS: Stativ IV (Katalog 1885) (grobe Einstellung mit Zahn und Trieb), Beleuchtungsapparat, Revolver für 3 Systeme, System A, C, E, Ocular 2, 3, Ocularmikrometer, Vergrösserung von 52—490. Preis ca. 380 M. Kommt dazu F, so stellt sich derselbe um 84 M., die Oelimmersion $^1/_{12}$ um 320 M. höher.

Ein gleichfalls sehr zweckmässiges Instrument ist: das neue Modell von HARTNACK Nr. VIII A (Katalog 1885), besonders zu Bacterienuntersuchung geeignet (grobe Einstellung mit Zahn und Trieb), Beleuchtungsapparat, System 4, 7, 8, Ocular 2, 3, Mikrometerocular, Vergrösserung 70—400, Preis 310 M. Dazu eventuell Trockensystem 9 = 60 M., homogene Immersion $^1/_{12}$ = 200 M.

Nicht minder empfehlen kann ich von LEITZ ein Mikroskop folgender Zusammenstellung: Stativ Nr. Ia 6 (Katalog 1885), grobe Einstellung mit Zahn und Trieb, ABBE'scher Beleuchtungsapparat, System 3, 7, Oelimmersion $^1/_{12}$, Ocular 0, I, III, Vergrösserung 50 bis 1000. Preis 300 M. Kommt Trockensystem 8 hinzu, so stellt sich der Preis um 40 M. höher.

B. Für den Gebrauch beim Unterricht und in der Praxis eignen sich unter anderen folgende Mikroskope:

HARTNACK (Nr. VIII, Katalog 1885), neues kleines Stativ (ohne Beleuchtungsapparat), System 4, 7, 8, Ocular 2, 3, Vergrösserung 70–400. Preis 210 M. Ferner

LEITZ (Nr. III, 17, Katalog 1885), Mittleres Mikroskop, System 3, 7, Ocular I, III, Vergrösserung 70—600. Preis 110 M. Dazu eventuell Trockensystem 8, Steigerung der Vergrösserung auf 762, Preis 40 M. mehr.

Ein besonders handliches und zweckmässiges Instrument ist Modell Nr. Ia. 7 (Katalog 1885) von LEITZ. Grosses Mikroskop mit Revolver für 2 Systeme und Abendcondensor, System 3, 7, Ocular I, III, Vergrösserung von 70—600. Hierzu kann noch ein Trockensystem 8, eventuell ein Beleuchtungsapparat und eine Oelimmersion ($^1/_{12}$ = 100 M.) genommen werden. Einige weitere hierauf bezügliche praktische Winke finden sich bei DIPPEL, Zeitschrift für wissensch. Mikrosk. 1885. S. 37.

Was die Prüfung der Instrumente betrifft, so rathe ich, dieselbe, wenn es irgendwie sich machen lässt, von einem Sachkundigen vornehmen zu lassen.

II. Schneide- und Präparirinstrumente.

1. Das Rasir- oder Schneidemesser.

Dasselbe muss vor allem eine aus gutem Stahl gefertigte und womöglich festzustellende Klinge sowie einen handlichen Griff besitzen. Die untere Fläche der Klinge muss plan sein. Als Vorbedingung für Herstellung guter Schnitte ist feste Fixation des Präparates in der linken Hand und gleichmässiges Ziehen der Klinge von ihrem Anfang bis zu ihrem Ende über die frischgelegte Schnittfläche nöthig. Das Verfahren ist leichter auszuführen am gehärteten, als am frischen Objecte. Genauere Angaben über die Beschaffenheit der Schneide- und Mikrotommesser finden sich bei GOTTSCHAU, Zeitschr. für wissensch. Mikroskopie. 1884. Band I. S. 327 ff., und ibid. Band II. S. 305.

Sehr beliebt in früherer Zeit, besonders wenn es galt, Schnitte von frischen Präparatenstücken herzustellen, war 2. das Doppelmesser. Man verfertigte solche von verschiedener Construction.

Digitized by Google

Dieselben sind jetzt durch das Gefriermikrotom bedeutend in den Hintergrund gedrängt. Den Anforderungen zur Erzielung eines gleichmässigen und in der Dicke beliebig zu variirenden Schnittes entsprachen am meisten solche, bei welchen beide Messerbranchen ihrer ganzen Länge nach in eine gleichmässige und im Durchmesser wechselnde Stellung zu einander zu bringen waren. Es kann dies durch verschiedene Mechanismen ermöglicht werden. Sehr zweckmässig in dieser Beziehung sind solche Doppelmesser, bei denen die eine Klinge beweglich, die andere feststehend ist, und wo beide durch eine an der Basis der letzteren angebrachte Schraube in beliebiger Weite und paralleler Richtung zu einander verstellt werden können. Bei dieser Construction ist zugleich gute Reinigung nach jedesmaligem Gebrauche möglich. Das Schneiden geschieht in der Weise, dass nach Einstellung der beiden Klingen das Messer leicht gegen das Object angedrückt und von seinem Anfang bis zu seinem Ende gleichmässig durch dasselbe hindurchgezogen wird. Darauf werden die Schraube an der Basis aufgedreht, die Klingen von einander entfernt und durch Eintauchen in 0,6% Kochsalzlösung von den anhängenden Schnitten befreit. Ein bisweilen recht unangenehm dabei sich bemerkbar machender Nachtheil ist der, dass trotz aller Bemühung und Vorsicht die Schnitte in ihrer Dicke nicht gleichmässig ausfallen, häufig auch verschiedentlich eingerissen sind, weshalb viele es vorzogen, die Schnitte aus freier Hand anzufertigen, oder sich anderer, am frischen Objecte möglicher, wenn auch unzureichender Untersuchungsmethoden zu bedienen. Das Verfahren hat ausserdem noch das Unangenehme, dass das makroskopische Präparat zu sehr dabei nothleidet.

Eine grosse Erleichterung für die Anfertigung mikroskopischer Schnittpräparate und besonders Schnittserien sowohl am gehärteten, wie am frischen Objecte, gewähren die, in neuerer Zeit mit Recht so schnell beliebt gewordenen 3. Mikrotome, die auf dem Arbeitstische von Keinem, der sich eingehender mit Mikroskopie beschäftigt, fehlen sollten. Dieselben sind in rascher Folge von kleinen Anfängen zu grosser Vervollkommnung gelangt und werden zur Zeit bereits von mehreren Geschäften in sorgfältiger Ausführung nach den verschiedensten Systemen der einfachsten bis complicirtesten Art geliefert. Als Verfertiger derselben sind u. A. anzuführen: AUGUST BECKER in Göttingen, THATE in Berlin, ERBE in Tübingen, JUNG in Heidelberg (grosses Schlittenmikrotom nach THOMA), KATSCH in München (Cylindermikrotome verschiedener Grösse nach GUDDEN), LONG in Bresslau, ZEISS in Jena, REICHERT in Wien und der Mechaniker des hiesigen pathologischen Instituts M. SCHANZE.

Unter diesen sämmtlichen habe ich über das von SCHANZE nach WEIGERT's Angaben gegenwärtig hergestellte Mikrotom die meiste Erfahrung. Ich kann dasselbe auf Grund mehrjährigen Arbeitens damit als solide und exact in allen Theilen ausgeführt mit bestem Gewissen empfehlen.

Dasselbe wird gegenwärtig in 5 verschiedenen Grössen angefertigt. Der Preis desselben beläuft sich von ca. 100 bis 250 M. incl. Messer und Gefrierapparat. (Neuerdings kommt noch dazu das Tauchmikrotom nach WEIGERT, siehe dazu Zeitschrift f. wissensch. Mikroskopie. 1885. B. II. S. 326.)

Das Mikrotomschneiden basirt auf denselben Prinzipien, wie das Schneiden mit dem gewöhnlichen Messer, nur dass hier, um ideale Schnitte zu erzeugen, möglichst alle Vortheile, die dabei überhaupt anzuwenden sind, ausgenutzt werden. Das zu schneidende Object muss unverrückbar fixirt sein und in subtiler und gleichmässiger Weise dem Messer genähert werden können. Letzteres dagegen muss derart dazu zu stellen sein, dass bei seiner Verschiebung auch die einzelnen Schnitte in erwünschter Dicke abgetragen werden. Beides wird bei dem SCHANZE'schen Modell dadurch erreicht, dass einmal das durch Klammervorrichtungen vollständig unbeweglich gemachte Object durch eine graduirte Schraube von regelmässigem Gange um einen bestimmten Bruchtheil seines Durchmessers von unten nach aufwärts gehoben und um einen bestimmten Theil über das Niveau der Schnittfläche des davor befindlichen Messers geschoben wird. Indem nun letzteres von vorne nach hinten in gleichmässigem Zuge über das Präparat hinweggezogen wird, wird von demselben soviel an Dicke, als über die Schnittfläche vorsteht, abgetragen. Das

Digitized by Google

Messer selbst ist in einen Metallschlitten eingespannt, dessen Hülse — gleichfalls aus Metall — eine genaue wagrechte Ebene darstellt. Die Handhabung dabei ist somit leicht verständlich. Vor allem entsprechende Feststellung des Schnittobjectes, gewöhnlich in einer, durch anderweit angebrachte Vorrichtung nach den verschiedenen Dimensionen des Raumes verstellbaren Klammer. Ist dies geschehen, so wird die Schraube um so viel von links nach rechts gedreht, als das Präparat über die Schnittfläche des Messers hervorragen soll, und darauf durch Verschiebung des Messers von vorne nach hinten der überstehende Theil abgetragen, und damit ist der Schnitt hergestellt. Ist am Mikrotom alles in guter Ordnung, zeigt das Object eine gute, schnittfähige Consistenz, so gelingt es damit Schnitte von grösster Feinheit herzustellen. Bei sämmtlichen Schanze'schen Instrumenten entspricht eine ganze Umdrehung der Schraube einer Hebung des Objectes

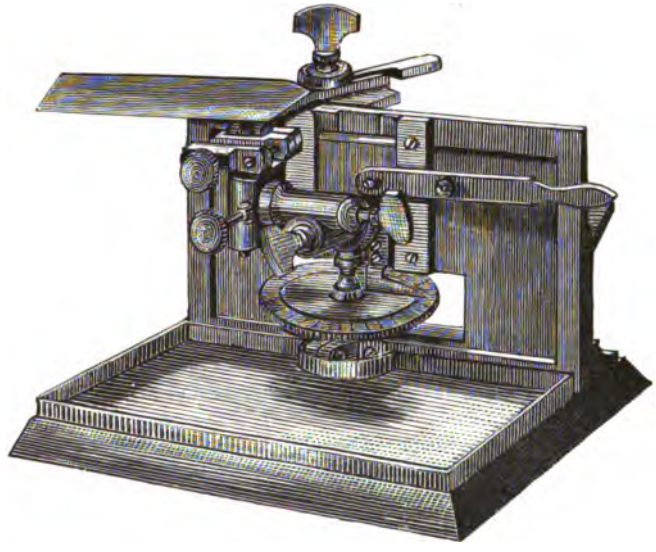


Fig. 1. Mikrotom nach Schanze.

um $^1/_2$ mm. Die Schraube selbst ist in 50 Theile getheilt. Bei Verschiebung um 1 Theilstrich entstehen somit Schnitte von $^1/_{100}$ mm Dicke. Für unsere Zwecke genügen gewöhnlich Schnitte von 2 bis 3 Hundertstel Millimeter Dicke (somit Verschiebung um 2 bis 3 Theilstriche). Neuerdings ist das 2 Theilstrichen entsprechende Spatium nochmals halbirt worden, um Schnitte von grösserer Feinheit ablesen zu können. Dieselben kommen weniger für uns in Betracht, als beim Schneiden mit quergestelltem Messer. Siehe hierüber Brass, Zeitschrift für wissensch. Mikr. 1885. B. II. S. 308.

Das Messer selbst muss, abgesehen von dem letztberührten Verfahren, in ein und derselben Richtungslinie zu dem zu schneidenden Objecte, also möglichst parallel dazu stehen, damit vorwiegend die Wirkung des Zuges dabei zur Geltung kommt. Dasselbe ist in gleicher Weise, wie das Object, vor der Ausführung des Schnittes mit rectificirtem (Celloidin) sonst absolutem Alkohol zu befeuchten. Es kann dies mit einem Pinsel, einer Spritzflasche u. s. w. geschehen. Keine Befeuchtung findet statt bei der Herstellung der sogenannten Bänderschnitte, sowie beim Schneiden am gefrorenen Objecte. Noch besonders darauf zu achten ist, dass die Schlittenvorrichtung stets in gutem Stande ist. Schlitten, wie Gleitfläche werden am besten dadurch gleichmässig glatt erhalten, dass man sie vor dem Gebrauche mit Vaseline oder Knochenöl stark einfettet, und dasselbe hernach durch Abreiben mit einem Stück Leinwand wieder davon entfernt. Befeuchten des Schlittens mit Alkohol ist unzulässig.

Digitized by Google

Die Wegnahme der Schnitte vom Messer hat vorsichtig zu geschehen, damit seine Schneide nicht abgestumpft wird. Man kann sich dazu eines Pinsels oder je nachdem mit Alkohol oder Kochsalzlösung befeuchteten Fliesspapieres bedienen. WEIGERT empfiehlt für die Schnittserien in Celloidin eingebetteter Gehirn- und Rückenmarks-Präparate als besonders geeignet Closetpapier aus dem Heidelberger pathologischen Institute. Den Finger hierzu zu verwenden, wie es häufig auch geschieht, ist ein etwas rohes Verfahren. Die Schnitte kommen sodann unmittelbar entweder in Wasser oder in Alkohol absolutus, bei Celloidinpräparaten in Alkohol rectificatus. Selbstverständlich ist, dass das Messer resp. seine Schneide stets in bestem Zustande sein muss.

Gilt es Schnitte vom frischen, nicht gehärteten, Objecte anzufertigen, so kann die Präparatenklammer durch einen Gefrierapparat (Aetherzerstäubung mit rauher Platte auf der Oberfläche) substituirt werden. Das aufgefrorene Stück darf dabei nicht befeuchtet werden; es muss weiter darauf geachtet werden, dass das Präparat nicht vollständig durchgefroren ist, sondern auf seiner Schnittfläche noch weiche Consistenz besitzt, sonst werden die Schnitte gehobelt, rollen sich um und lassen sich hernach nicht mehr gut ausbreiten.

Was die zu schneidenden, gehärteten Objecte betrifft, so werden dieselben entweder in toto in die Klammer gespannt und dem Schneiden unterworfen; es ist dies eine etwas unfeine und am wenigsten zu empfehlende Methode. Schonender schon ist das Einklemmen in umschliessende Präparatenstückchen verschiedenster Art, am gewöhnlichsten speckig degenerirter Organe; auch Hollundermark kann dazu benutzt werden. Noch besser und am empfehlenswerthesten ist unstreitig die Schnittführung an den auf Korke aufgeklebten Präparaten, wie es meines Wissens von WEIGERT zuerst angegeben worden und gegenwärtig vielfach üblich ist. Man nimmt dazu „flüssigen Leim", wie er überall käuflich ist, streicht denselben in dünner Schichte über die Oberfläche des Korkes und bringt darauf das Präparatenstück, dasselbe mit dem Finger sanft aufdrückend. Darauf wird der Kork an seiner Basis mit einem Bleifüsschen versehen und zur Erhärtung der Leimmasse ¼ bis einige Stunden in absoluten Alkohol gebracht. Wenn der Leim erstarrt ist, wird das Object dem Schneiden in gewöhnlicher Weise unterworfen. Die spätere Aufbewahrung geschieht gleichfalls wieder in absolutem Alkohol. Darauf zu achten ist, dass die Leimmassen nicht die Ränder des Präparates bedecken, da sie erstarrt, eine sehr feste Consistenz besitzen und die Schneide des Messers schartig machen. Es ist dies zu vermeiden, wenn die betreffenden Ränder einfach mit dem Messer abgetragen werden. Nicht minder ist darauf zu sehen, dass der Kork selbst nicht mitgeschnitten wird.

In Celloidin eingebettete Präparate erfordern, damit sie auch vollständig festhalten auf dem Korke, ein zuvoriges Bedecken seiner Oberfläche mit flüssigem Celloidin, oder noch besser Korke, die eine bereits eingetrocknete Schicht von Celloidin tragen. Das Präparat wird auf dieselben einfach aufgelegt und mit überschüssigem Celloidin an Oberfläche und Rändern noch weiter bedeckt.

Eine besondere Technik ist nöthig zur Herstellung der sogenannten „Bandschnittserien". Die Methode ist bis jetzt fast ausschliesslich bei zoologischen und embryologischen Untersuchungen angewendet worden, dürfte aber künftighin auch bei pathologisch-anatomischen Objecten, zumal wenn es sich um Durchmusterung von ganzen Präparatenstücken handelt, zu versuchen sein. Die nicht tingirten oder durchgefärbten Präparate müssen zuvor in Paraffin eingebettet sein. Das Schneiden geschieht, wie schon erwähnt, mit zum Objecte quergestelltem Messer; dabei wird die Schneide dicht vor das Präparat gestellt und rasch hindurchgezogen. Näheres hierüber findet sich in der Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1885. B. II. S. 7 ff., SPEE, leichtes Verfahren zum Erhalten u. s. w. von Schnittbändern, und ibid. 1885. B. II. S. 307.

Ferner von Nöthen sind: 4. einige grössere und kleinere Präparirmesser;

5. eine gerade und eine über die Fläche gebogene feine Scheere;

6. einige feinere, gut federnde Pincetten mit glatten Spitzen von diverser Grösse;

Digitized by Google

7. Präparirnadeln.

Dieselben sollen aus gut gehärtetem Stahle bestehen und starke, nicht umbiegbare Spitzen besitzen. Noch besser sind, als Ersatz dafür, Glasnadeln.

8. Ein grösserer und kleinerer Spatel von Neusilber.

III. Glasgegenstände.

1. Objectträger.

Das zu wählende Format steht in dem Belieben des Einzelnen. Gut ist es, wenn dieselben nicht zu schmal sind; ferner sollen sie aus reinem, weissen Glas bestehen. Häufig wird auch blassgrünliches Glas benutzt. Die Ränder können dabei abgeschliffen sein.

2. Deckgläschen.

Es empfehlen sich quadratische Blättchen entweder von 18 mm (das Gewöhnliche) oder von 15 mm Seite, als grösseres Format solche von 26 mm Länge und 21 mm Breite. Dieselben sollen gewöhnlich eine Stärke von 0,15 mm haben; für stärkere Vergrösserung ist es besser, solche von 0,10 mm Dicke in Anwendung zu ziehen.

3. Schalen diverser Grösse, nach Belieben mit glatt aufliegendem oder eingeschliffenem Deckel.

Zweckmässig ist es, dazu einige von kleinster, mittelgrosser und grösster Sorte zu nehmen. Noch weiter zu berücksichtigen ist, dass sie aus weissem Glase bestehen, einen vollkommen glatten Boden besitzen und der Rand nicht zu hoch ist.

4. Einige Uhrschälchen variabler Grösse.

5. Präparirnadeln.

Man kann dieselben leicht durch Ausziehen solider Glasstäbe an Spiritus- oder Gasflamme sich selbst herstellen.

6. Einige Pipetten.

Gleichfalls durch Ausziehen von Glasröhren an der Flamme herstellbar.

7. Eine Flasche für Canadabalsam mit langem Stöpsel u. s. w.

8. Eine Spirituslampe.

Nächstdem empfehlenswerth sind ein Becherglas, grössere und kleinere Flaschen mit eingeschliffenem Stöpsel, ein Glasspatel für Osmiumpräparate, Glastrichter, einige Objectträger mit eingeschliffener Vertiefung, grössere und kleinere Glasglocken, Reagenzgläser, graduirte Cylinder und endlich eine Glas- oder Porzellanplatte, von der eine Hälfte hell, die andere dunkel gefärbt ist, zur Erleichterung der mikroskopischen Präparation.

IV. Weitere Utensilien.

Einige feinere und gröbere Pinsel. Kork zum Aufkleben der Präparatenstückchen, als Stück im Ganzen oder nach der Mikrotomklammer zugeschnitten. Einige Nägel, deren Köpfe mit Blei umgossen sind, um die Präparatenkorke in der Flüssigkeit untergetaucht zu erhalten. (Nach Angaben von Dr. Lamhofer hier; sehr zu empfehlen.) Flüssiger Leim. Ein guter Streichriemen. Fliesspapier mittlerer Stärke und nicht zu rauher Oberfläche. Präparatenetiquetten. Präparatenschachtel. Ein Leinwandläppchen zur Reinigung der Linsen nicht zu vergessen!

Sehr zweckmässig für die Aufstellung der Reagentien und Farbstoffe ist die Beschaffung eines Reagentienständers, wie er seit Jahren im hiesigen Institute üblich ist, und nach dem Belieben des Einzelnen noch in dieser oder jener Weise modificirt werden kann. Es ist dies ein Tablett aus Holz mit

Digitized by Google

eingeschnittenen Oeffnungen für die hereinzustellenden — 50 Grm. Flüssigkeit fassenden — Gläser. Dasselbe ist für 8—10 Stück berechnet. Es trägt an seiner einen Breitseite noch extra eine fachförmige Vertiefung, in welche die nöthigsten Instrumente u. s. w. hineingelegt werden können.

Bisweilen macht sich noch ausserdem ein Apparat für künstliche Beleuchtung wünschenswerth. Bevor man zu einem solchen greift, sollte man sich stets vor Augen halten, dass es im Allgemeinen als Regel gelten soll, es möglichst zu vermeiden, bei künstlichem Lichte zu arbeiten, da dasselbe das natürliche in keiner Weise ersetzen kann. Für manche Zwecke, so für Bacterienuntersuchung mag künstliches Licht, besonders unter den unten angegebenen Kautelen angewendet, noch gehen, für andere aber, z. B. die Erkennung resp. Unterscheidung von Farbennuancen, das Studium feinerer Differenzirung in protoplasmatischen Substanzen, besonders am ungefärbten Objecte, sind die bis jetzt construirten Apparate noch keineswegs ausreichend. Man kann sich dazu schon einer durch mattes Glas abgeblendeten Petroleum- oder Gasflamme bedienen. In neuerer Zeit sind, um einen dem weissen Tageslicht möglichst analogen Effect hervorzubringen, verschiedene Beleuchtungsvorrichtungen construirt worden, worunter zu nennen sind: die Lassar'sche Lampe, ferner die von H(anausek), letztere referirt in der Zeitschrift für wissensch. Mikroskopie. 1884. B. I. S. 266, sowie der nach Altmann's Vorschriften von Leitz gefertigte Abendcondensor. Sie sind sämmtlich zu diesem Zwecke zu empfehlen. Das Wesentliche besteht bei denselben darin, dass die von der Lichtquelle ausgehenden Strahlen, ehe sie auf das Präparat fallen, eine blaue Glasplatte passiren müssen. Weit einfacher kommt man zu Stande, wenn man zwischen Lichtquelle und Mikroskop einen im Innern hohlen Glasgegenstand, entweder eine gewöhnliche Flasche oder eine sogenannte „Schusterkugel" einschaltet, die mit blauer Flüssigkeit gefüllt sind. Letztere kann man auf verschieden chemischem Wege sich bereiten, am bequemsten und schnellsten, wenn man von einer concentrirten alkoholischen Methylenblaulösung so viel in destillirtes Wasser giesst, bis dieses eine himmelblaue Farbe angenommen hat.

B. REAGENTIEN.

Wir bedienen uns derselben zu verschiedenen Zwecken, einmal als Vorbereitungsmittel für weitere Untersuchungen (Erhärtung und Entkalkung), in anderen Fällen um bestimmte Gewebsbestandtheile (z. B. Kerne, elastische Fasern, Muskelfasern) genauer vor Augen zu bringen, weiter zum Nachweis von Mikroorganismen und endlich als Färbemittel resp. Unterstützungsmittel bei Färbungen. Je nach der Concentration, in welcher sie angewendet werden, ist der Effect ein verschiedener; stärkere Lösungen beschleunigen gewöhnlich den Process, wirken aber eingreifender auf die Gewebsbestandtheile ein, als schwächere.

I. Destillirtes Wasser

muss von allen Verunreinigungen frei sein, insbesondere den bisweilen hier sich etablirenden Pilzen; es dient als Lösungs- und Auswaschungsmittel, sowie zur Aufnahme und Suspension gehärteter Schnitte. Speciell bei seiner Anwendung in frisch ausgekochtem Zustand lassen sich aus normaler Weise stark lufthaltigen Organen resp. deren frischen Schnitten die Luftblasen leicht entfernen. — Lungen, Fettembolie. —

Für frische Objecte ist das destillirte Wasser wegen der dadurch erzeugten Quellung und Veränderung in der Structur nicht geeignet. Für letztere ist allein zulässig das Einbringen in

II. Kochsalzlösung.

Dieselbe wird in 0,6 % Concentration angewendet.

Digitized by Google

Sie findet allgemeine Verwendung als Zusatz zu frischen Flüssigkeiten jeder Art, Exsudat, Cysteninhalt u. s. w., zu Zerzupfungspräparaten u. s. w. Auch hier ist auf Ausschluss jedweder Verunreinigung zu achten.

Ein zweckmässiges Ersatzmittel für letztere ist Blutserum, Hydrocelen- und unzersetzte, seröse Flüssigkeit aus den verschiedenen Körperhöhlen.

III. Alkohol. Aether.

Ersterer zur Erhärtung, Conservirung und Entfettung in seinen verschiedenen Concentrationsgraden, letzterer zur Entfettung, Celloidineinbettung und zum Gefrierenlassen (von 0,725 spec. Gew.). Der Alkohol wird benutzt als rectificatus ca. 50%, rectificatissimus 90—95% reinen Stoffes enthaltend und absolutus (wasserfrei). Letztere beiden kommen für unsere Zwecke speciell in Betracht; erstere Mischung stellt den gewöhnlichen Präparatenspiritus dar.

IV. Säuren.

Nur in chemisch reinem Zustande anzuwenden:

1. Essigsäure

in concentrirtem Zustande bis 20% zum Nachweis von Mikroorganismen sehr geeignet; in verdünnter Lösung — das Gewöhnliche ist 2% — gleichfalls für ersteren Zweck verwendbar, ausserdem noch zur deutlichen Sichtbarmachung der Kerne, der elastischen Fasern, des Fettgewebes u. s. w., in Folge ihrer Eigenschaft, auf Albuminate und leimgebende Substanzen aufquellend zu wirken.

Man bringt dabei die Schnitte aus Wasser entweder in die in einer Schale befindliche Säurelösung, lässt sie daselbst einige Minuten und unterwirft sie sodann, in derselben suspendirt, auf dem Objectträger der mikroskopischen Untersuchung, oder man lässt die Säure auf dem Objectträger direct auf das freiliegende oder unter dem Deckglas befindliche Präparat einwirken.

Das Verfahren ist dasselbe auch bei den übrigen, noch weiter anzuführenden Säuren und Alkalien.

2. Salzsäure.

Zur Entkalkung gewöhnlich in 0,5prozentiger Lösung. Die Wirkung im Uebrigen analog derjenigen der Essigsäure.

3. Schwefelsäure.

Speciell zur Ausführung der Amyloidreaction, sowie der auf Cholestearin. In Lösungen von 1 : 300—500 bewirkt sie Gerinnung von Albuminaten und Aufquellung der leimgebenden Substanzen, deshalb gut verwendbar zur Darstellung der Stützsubstanzen im Nervensystem und den Lymphdrüsen. Ist noch weiter werthvoll als Reagens auf kohlensauren Kalk; durch Zusatz einer ½—1prozentigen Lösung entstehen unter Bildung von Gasblasen die charakteristischen Gypskrystalle.

4. Salpetersäure.

Zur Entkalkung, Erhärtung in Lösung bis zu 5% anzuwenden, ferner als Hilfsmittel zur Tuberkelbacillenfärbung (33 Theile concentr. Säure zu 66 Theilen aqu. destill.). In einer Concentration von 20 : 100 ruft sie ähnlich wie 20—30prozentige Kalilauge eine Lösung der Kittsubstanzen, z. B. der glatten Muskelfasern hervor. Dasselbe wird erreicht durch Behandlung mit Königswasser (Kraus). Es lassen sich dadurch zellige Gebilde, Linsenfasern und selbst Knochenkörperchen isoliren.

5. Chromsäure

in wässrigen Lösungen von 1—2%, als Erhärtungs- und Entkalkungsmittel.

Dasselbe gilt von den chromsauren Salzen: Einfach- und doppeltchromsaures Kali, doppeltchromsaures Ammoniak, und den Mischungen derselben mit anderen Salzen, z. B. mit schwefelsaurem Natron (Müller'sche Flüssigkeit), mit Kupfersulfat u. s. w. Genaueres hierüber s. bei Fol, Histologie, Seite 104 ff.

Digitized by Google

6. Osmiumsäure

in Lösungen gewöhnlich von $^1/_3$—2% zur Färbung von Fettgewebe, Nervenmark und unter pathologischen Verhältnissen zur Darstellung der fettigen Degeneration. Dieselbe wirkt zugleich erhärtend und wird in Verbindung mit Essigsäure u. s. w. als Vorhärtung zur Untersuchung der Kernfiguren angewendet; Weiteres s. u.

7. Pikrinsäure.

Als solche allein in 1—5prozentiger wässeriger Lösung oder in Verbindung mit anderen Säuren als Erhärtungsmittel; ferner dient sie zur Entkalkung entweder in gesättigter wässeriger Lösung oder mit dem 3—5fachen Volumen destillirten Wassers verdünnt. Weiter wird sie noch als — gelber — Farbstoff benutzt für Protoplasma, Bindesubstanzen u. s. w. Näheres s. bei den spec. Capiteln.

V. Alkalien.

Kali. Natron. Ammoniak.

Sie finden ihre Hauptverwendung, wenn es darauf ankommt, eine Auflösung der protoplasmatischen und leimgebenden Substanzen herbeizuführen und unterscheiden sich von den Säuren, insbesondere der Essigsäure, welche, wie wir gesehen, einen ähnlichen Effect haben, dadurch, dass es dabei auch zum Schwund der Kerne kommt. In Folge davon treten noch deutlicher wie bei Säurebehandlung zu Gesicht pathologische Producte mannigfachster Art: Verkalkung, Verfettung, Amyloid, Mikroorganismen, Pigmente u. s. w. Die Ausführung der Reaction kann in der Schale geschehen, besser auf dem Objectträger. Wir nehmen dazu eine Mischung von 1—5 Theile Alkali, gewöhnlich Kali- oder Natronlauge, auf 100 Theile destillirtes Wasser. In stärkerer Concentration, 30—35%, bewirken sie eine Auflösung der Kittsubstanz bei Erhaltung der zelligen Elemente. Die Reaction ist nur bei Geweben in frischem Zustande anzuwenden. Aehnliches leisten Kalk- und Barytwasser. Das Verfahren ist zur isolirten Darstellung von glatten Muskelfasern zu empfehlen. Die Präparation muss in der concentrirten Flüssigkeit selbst geschehen, ohne Zusatz von destillirtem Wasser, da bei der dadurch bewirkten Verdünnung eine vollkommene Auflösung der Gewebsbestandtheile stattfindet.

VI. Sublimat.

In 2prozentiger wässriger oder in 3—5prozentiger alkoholischer (50—60prozentiger Alkohol) Lösung als Erhärtungsmittel zu verwenden. Man lässt die Stücke nicht länger wie einige Stunden in der Flüssigkeit liegen, bringt sie dann bis zur völligen Erhärtung in absoluten Alkohol und unterwirft sie hernach weiterer Präparation. Hat bis jetzt hauptsächlich in der normalen Histologie Verwendung gefunden. Es gibt noch eine Zahl von Mischungen des Sublimat mit anderen chemischen Verbindungen, welche dasselbe leisten, worunter die sogenannten Pacin'schen Flüssigkeiten die bekanntesten sind.

VII. Jod und Jodkalium.

Hauptsächlich unter der Form der Lugol'schen Lösung.

Zur Reaction auf Amyloid, Cholestearin, Glycogen, corpora amylacea, als Haupthilfsmittel bei der Gram'schen Methode. Kommt an den betreffenden Orten zur Besprechung.

C. VORBEREITENDE METHODEN.

I. Erhärtung.

Zweck: den Geweben eine zur Anfertigung mikroskopischer Schnitte geeignete Consistenz zu verleihen und zugleich die nach dem Tode entstehenden Zersetzungsvorgänge, welche auf die Structur der Gewebe destruirend einwirken, zu sistiren. Dabei ist es nöthig, solche Stoffe zu wählen, welche Form und

Digitized by Google

Anordnung der Gewebsbestandtheile zu einander nicht zu sehr alteriren. Es sind zu diesem Behufe verschiedene Flüssigkeiten im Gebrauch. Dringendes Erforderniss ist es vor Allem, die Organtheile möglichst bald nach dem Tode dem Körper zu entnehmen, um Fäulnissveränderungen jeder Art mit Sicherheit auszuschliessen. Handelt es sich um den Nachweis von Mikroorganismen, so ist vollends das Einlegen von Flüssigkeiten, welche eine postmortale Entwickelung derselben oder Weiterwachsthum bereits im Leben vorhandener Formen absolut ausschliessen, durchaus nothwendig. Am besten ist hierbei absoluter Alkohol zu verwenden. Kommt es auf möglichst vollkommenen Erhalt der natürlichen Zellstructur an, so sind solche Flüssigkeiten zu wählen, welche die Theile in der im Leben vorhandenen Form zu fixiren im Stande sind. Am meisten dazu geeignet sind Gemische von chromsauren Salzen mit anderen chemischen Verbindungen, worunter oben ansteht die MÜLLER'sche Flüssigkeit, während Alkohol in seinen verschiedenen Concentrationsgraden, sowie die Chromsäure und ihre Verbindungen allein wegen der Gerinnung, welche sie häufig erzeugen, das normale Structurbild vernichten oder wenigstens beeinträchtigen und zu Täuschung verschiedenster Art Veranlassung geben. Dagegen sind die Chromsäure und ihre Salze als Härtungsmittel für solche Untersuchungen noch unersetzlich, bei denen es weniger auf das Studium der Zellformen, sondern auf die Darstellung fetthaltiger Substanzen, welche durch Alkohol ausgezogen werden, ankommt (besonders markhaltige Nervenfasern). Zum Nachweis der Kernfiguren ist die Erhärtung mit Chromsäure und ihren Salzen und Salpetersäure vortheilhaft.

Zu empfehlen ist es, den Lösungen der Chromsäure und ihren Verbindungen zur Vermeidung von Pilz- und Schimmelbildung ein Stückchen Kampfer oder Naphthalin beizugeben.

Die Erhärtung mit Alkohol lässt sich in wenigen Tagen ausführen und ist deshalb besonders in diagnostischer Beziehung sehr werthvoll; die mit MÜLLER'scher Flüssigkeit und ihren verwandten Stoffen erstreckt sich über Wochen, ja unter Umständen selbst Monate (Central-Nervensystem).

Die zu härtenden Objecte werden in möglichst kleine, nicht über 1—1 ½ cbcm grosse Stücke geschnitten, in ein geräumiges Glas mit breiter Basis gebracht, so dass sie mehr neben, als auf einander liegen und mit reichlicher Flüssigkeit übergossen. Dieselbe soll zum mindesten zwei Querfinger die Oberfläche der Präparate überragen.

1. Alkohol.

Die Erhärtung lässt sich in doppelter Weise ausführen. Gilt es sehr schnell das Object zu härten, so bringt man ca. 1 cbcm grosse Stücke desselben in absoluten Alkohol, wechselt denselben alle 6—8 Stunden. Ist dies 2—3 mal geschehen, so ist gewöhnlich das Präparat schnittfertig; wo nicht, so wird dasselbe nochmals wiederholt. Langsamer, aber ebenso sicher, kommt man zum Ziele, wenn man gewöhnlichen Präparatenspiritus nimmt (Alkohol rectificatissimus) und das erste Mal nach 24 Stunden, und darauf einen Tag um den andern die Flüssigkeit erneuert. Nach 6—8 Tagen ist der nöthige Consistenzgrad erreicht.

2. Chromsäure und ihre Salze.

Für dieselben gilt als allgemeine Regel, dass sie in besonders reichlichen Mengen zuzusetzen sind und im Anfange recht häufig durch frische Flüssigkeit ersetzt werden müssen. Man wechsle das erste Mal nach 24 Stunden, dann in der ersten Woche jedesmal den zweiten, und in der 2. und 3. den dritten Tag, in den darauffolgenden acht Tagen noch zweimal und darauf alle 6—8 Tage. Die Procedur ist solange fortzusetzen, bis der nöthige Consistenzgrad erreicht ist, wovon man sich durch Anfertigen von Schnitten überzeugen muss. Bestimmtere Vorschriften lassen sich nicht geben. Je peinlicher die Ausführung, um so lohnender der Erfolg.

Digitized by Google

Weigert hat neuerdings darauf aufmerksam gemacht, dass das Verfahren durch Einwirkung der Wärme bedeutend abgekürzt werden kann. Er empfiehlt eine Brütofentemperatur von 30—40° C. Reichliches Wechseln der Flüssigkeit ist erst recht hier am Platze. Es lassen sich auf diese Weise innerhalb 8—14 Tagen schnittfähige Präparate herstellen. Bis jetzt ist die Methode hauptsächlich für das Centralnervensystem in Anwendung gebracht worden, verdient aber auch an andern Organen künftighin noch weiter erprobt zu werden.

Nach geschehener Erhärtung werden die Objecte je nach der Grösse und Consistenz ¼ bis mehrere Stunden lang in öfters zu erneuerndem Wasser ausgewaschen, im Allgemeinen so lange, bis dasselbe nicht mehr trübe abläuft; am einfachsten benutzt man dazu einen stetig fliessenden, dünnen Strahl aus der Wasserleitung. Darauf bringt man sie zur Conservirung und weiteren Präparation in rectificirten Alkohol, der auch noch das eine und andere Mal gewechselt werden kann.

Die hierbei in Verwendung kommenden Verbindungen sind: Chromsäuren, einfach und doppeltchromsaures Kali, das doppeltchromsaure Ammoniak, sowie Mischungen dieser Stoffe mit anderen Salzen. Darunter hat mit Recht einen alten Ruf die

Müller'sche Flüssigkeit. Sie besteht aus einem Gemisch von 2 gr bis 2,5 gr doppeltchromsaurem Kali, 1 gr schwefelsaurem Natron, 100 gr destillirtem Wasser. Sie findet als bestes und zuverlässigstes Erhärtungsmittel mit Recht die vielseitigste Verwendung. In mancher Beziehung gleich kommt ihr die

Erlicki'sche Flüssigkeit. Dieselbe ist zusammengesetzt aus 2,5 gr doppeltchromsaurem Kali, 0,5 gr schwefelsaurem Kupfer und 100 gr destillirtem Wasser. Präparate erhärten darin, sorgfältig umgelegt, bei Zimmertemperatur in 8—10, im Brütofen (30—40° C.) nach 4—6 Tagen.

3. Salpetersäure.

Dieselbe ist besonders zweckmässig zur nachherigen Darstellung der Kerntheilungsfiguren. Altmann (Arch. f. Anat. und Physiol. 1881. S. 219). empfiehlt dazu, dieselbe in 3prozentiger wässriger Lösung anzuwenden. Die Stücke werden ca. 1 Stunde in dieselbe gelegt, hernach gut in destillirtem Wasser ausgewaschen und in absoluten Alkohol zur definitiven Erhärtung gebracht. Die Säure muss ein spec. Gew. von 1,02 haben.

4. Pikrinsäure.

Dieselbe wird in ihrer Eigenschaft als Erhärtungsmittel in 1—5prozentiger wässriger Lösung nach den angegebenen Prinzipien angewendet.

5. Sublimat

und Gemische desselben mit anderen Salzen, siehe unter chemischen Reagentien.

Ein weiteres, der Erhärtung dienendes Verfahren besteht in der

II. Kochmethode

die schon früher von diesem und jenem in Anwendung gezogen und neuerdings wieder von Posner (Virchow's Archiv 1880. B. 79. S. 311) für bestimmte Zwecke als Ersatz für die Erhärtung empfohlen wurde.

Dieselbe muss mit Vorsicht ausgeführt werden, damit die Gewebselemente nicht zu sehr darunter nothleiden. Die Stücke müssen in Form kleiner Würfel, durchschnittlich 1 cbcm gross, entweder unmittelbar in kochendes Wasser geworfen werden, wo sie einige Sekunden bis wenige Minuten verbleiben, oder sie kommen zuerst in Wasser von 50—60° C., das allmälig bis zum Kochen erhitzt wird. Ist es zum Kochen gekommen, so lässt man sie gleichfalls einige Sekunden bis wenige Minuten daselbst noch liegen. Darauf werden sie unmittelbar in absoluten Alkohol gelegt und in diesem vollends definitiv erhärtet. Ich habe es am besten gefunden, wenn die Stücke direct in das kochende Wasser kamen und dort nicht länger wie ¼—½ Minute verblieben und die Nachhärtung in Alkoh. absol. geschah. Es lassen sich auf diese Weise Cysteninhalt, Lungenödem, Harncylinder schön zur Anschauung bringen. Das Verfahren empfiehlt sich, besonders auch der geringen Umständlichkeit halber, für den Praktiker.

Digitized by Google

Einen ähnlichen Zweck verfolgte früher, ehe man Härtung und Verfahren des Gefrierenlassens kannte, behufs Herstellung mikroskopischer Präparate die

III. Methode des Eintrocknens.

Die an der Luft bis zur Schnittfähigkeit eingetrockneten Objecte wurden dem Schneiden unterworfen, und die Schnitte hernach durch Behandlung mit destillirtem Wasser, Kochsalz- oder schwacher Essigsäure- und Kalilösung wieder zur Aufquellung gebracht. Das Verfahren ist jetzt so gut wie verlassen. Bekommt man eingetrocknete Objecte zur mikroskopischen Untersuchung, so sind genannte Manipulationen in vorsichtiger Weise in Anwendung zu ziehen und je nachdem noch weiter zu variiren.

IV. Das Schliffemachen.

Gewisse Verhältnisse können es wünschenswerth machen, aus soliden, dem Schneiden nicht zugänglichen Theilen, Knochen, Zähnen, ohne Zuhilfenahme der Entkalkung mikroskopische Präparate anzufertigen. Zur Darstellung derselben bedienen wir uns der sogenannten Schliffmethode. Ich kann auf dieselbe hier nicht näher eingehen und verweise betreffs der hierbei anzuwendenden Technik auf die Lehrbücher der normalen Histologie, sowie auf eine neuere Mittheilung von Höhnel (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1884. B. I. S. 234).

V. Entkalkung.

Bei ihr liegt im Gegensatz zu der Erhärtung das Wesentliche darin, den eine mikroskopische Präparation unter natürlichen Verhältnissen nicht zulassenden Consistenzgrad der betreffenden Theile herabzusetzen und sie dadurch dem Schneiden und der nachherigen Untersuchung zugänglich zu machen. Es dreht sich dabei alles darum, die eingelagerten Kalkmassen möglichst vollständig und in einer Weise zu entfernen, die am wenigsten alterirend auf die übrigen Gewebsbestandtheile einwirkt. Die verschiedenen Anweisungen, die dazu existiren, gründen sich in der Hauptsache darauf. Es sind zu diesem Zwecke bald diese, bald jene chemischen Verbindungen mehr empfohlen worden. Im Allgemeinen lassen sich zwei Proceduren dabei anwenden: die länger dauernde, aber viel schonendere und deshalb mehr zu empfehlende Methode, welche Flüssigkeit von geringerer Concentration erfordert, und die rascher zum Ziele führende, bei der höhere Concentrationsgrade nöthig sind. Bei letzterer ist die Gefahr eingreifender Schädigung der Weichgebilde eine grössere.

Nach der Entkalkung ist, um die Nachwirkung der betreffenden Agentien völlig auszuschliessen, ein unter Umständen stundenlang fortgesetztes Auswaschen in öfter zu wechselndem destillirtem Wasser nöthig.

Als Methode für langsame Entkalkung empfiehlt sich die Behandlung mit

Müller'scher Flüssigkeit. Man bringt die Objecte — gewöhnlich in frischem Zustande — in Stücken, welche nicht über einige Centimeter gross sind — Röhrenknochen von Kindern, in der Mitte aufgesägt, in toto —, Wochen und selbst Monate lang in die Flüssigkeit. Eine bestimmte Zeit lässt sich nicht angeben; je grösser das Stück ist, desto länger dauert es. Die Entkalkung ist vollständig, wenn die Theile biegsam geworden und eine schnittfähige Consistenz angenommen haben. Reichliche Flüssigkeit und häufiges Wechseln derselben ist auch hier nöthig: in den ersten 2 Wochen jeden 2. Tag, die nächsten Wochen alle 3—4 Tage, nach dieser Zeit am 5. oder 6. Tage. Längeres Liegenlassen, auch wenn die Entkalkung vollendet ist, schadet nichts. Das Verfahren ist für Untersuchungen über Rachitis, Osteomalacie, Knochensyphilis, sowie andere Erkrankungen am Knochenapparate, nicht minder aber auch für Entkalkungen unter anderen Verhältnissen sehr vortheilhaft. Dabei bleibt zumeist die gewebige Structur in vollkommenster Weise erhalten. Pommer empfiehlt dasselbe neuerdings zu dem angegebenen Zwecke wieder aufs wärmste (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1885. B. II. S. 151 ff.).

Digitized by Google

Schneller kommt man zu Stande, wenn man sich stärker concentrirter Säuren bedient. Am geeignetsten dazu sind Salpetersäure bis zu 5%, Pikrinsäure entweder in gesättigter wässeriger Lösung oder letztere mit dem 3—5fachen Volumen destillirten Wassers verdünnt.

Besser ist es, wenn die Stücke zuvor schon in Alkohol gehärtet sind, da die Säure in dieser Concentration auf zarte, frische Weichgebilde leicht zerstörend einwirkt. Die Flüssigkeit muss täglich gewechselt werden. In wenigen Tagen ist die Entkalkung vollendet. Starkes und wiederholtes Auswaschen in Wasser ist auch hier nöthig.

Als weitere Entkalkungsmittel sind noch anzuführen: a) ein Gemisch von ½ gr Chromsäure, 2 gr Salzsäure und 100 gr destillirtes Wasser: b) die 3 prozentige Salpetersäure, besonders zweckmässig, da sie zugleich ein gutes Härtungsmittel (Kerntheilungsfiguren) darstellt; c) das Phloroglucin (ANDEER, Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1884. Nr. 33).

ANDEER wendet für die erste Zeit der Entkalkung Lösungen von gesättigtem Phloroglucin-Wasser und Salzsäure zu gleichen Theilen gemischt an. Später kann man „nach Bedürfniss die Knochenerweichung durch weiteren Salzsäurezuschuss beschleunigen". Häufiges Wechseln der Entkalkungsflüssigkeit und oft wiederholtes Auswaschen in reichlichem destillirtem Wasser sind auch hier dringend erforderlich. Darauf wird in gewöhnlicher Weise weiterverfahren.

Zum mikroskopischen Nachweis von Fett, besonders wenn es sich um Differentialdiagnose mit Kalk handelt, ist bisweilen nöthig die

VI. Entfettung.

Die Ausführung ist verhältnissmässig einfach. Man bringt fettlösende Substanzen, Alkohol, Aether, Chloroform entweder direct auf das auf dem Objectträger befindliche Präparat, oder lässt dieselben am Rande zufliessen, um sich von dem Erfolge unmittelbar zu überzeugen. Ein anderes Verfahren besteht darin, Schnitte oder kleine Stücke der zu untersuchenden Substanz auf Minuten bis Stunden mit genannten Flüssigkeitsmassen in Berührung zu bringen und die mikroskopische Untersuchung erst nachträglich vorzunehmen. Gewöhnlich wird dabei in der Weise vorgegangen, dass man die Objecte zuerst einige Zeit, frische Präparate mindestens 10 Minuten, in absoluten Alkohol legt, hernach 5—10 Minuten in Schwefeläther, dann wieder zurück in absoluten Alkohol bringt und hernach in destillirtem Wasser untersucht. Es können dem letzteren einige Tropfen Essigsäure (!) zugesetzt werden, um das Ganze durchsichtiger zu machen. Das Verfahren wird so lange wiederholt, bis das Fett geschwunden ist resp. die Differentialdiagnose mit Sicherheit gestellt werden kann. Statt Aether kann man auch Chloroform verwenden. Nicht zu vergessen ist, dass schon bei der gewöhnlichen Härtung in Alkohol den Geweben das Fett mehr oder minder entzogen wird.

Unentbehrlich für pathologisch-histologische Untersuchungen und in neuerer Zeit vielfach mit Recht in Anwendung gezogen ist

VII. Die Einbettung.

Sie bezweckt, zarte, leicht zerreissliche Gegenstände, z. B. Auflagerungen auf Serosen, Geschwürsflächen und Schleimhäute, Thrombusmassen u. s. w. in einer Weise zu fixiren, dass sie in ihrer normalen Zusammensetzung und Lage zu der Umgebung erhalten bleiben und einer erspriesslichen Präparation unterworfen werden können. Die verschiedensten Methoden sind dazu angegeben worden. Diejenige, welche in neuerer Zeit das Feld erobert hat, und welche ich nicht dringend genug empfehlen kann, da sie allen an ein derartiges Verfahren gestellten Anforderungen entspricht und ohne Schwierigkeiten sich ausführen lässt, ist die mit Celloidin (DUVAL, SCHIEFFERDECKER).

Digitized by Google

Vorschrift.

Die zuvor gut gehärteten Objecte werden aus Alkohol direct zum mindesten 12 Stunden lang in ein Gemisch von 6 Theilen Schwefeläther (0,720 spec. Gew.) und ein Theil Alkohol rectificatus (0,842 spec. Gew.) gebracht. Längeres Liegenlassen, bis zu mehreren Tagen, schadet nichts, ist im Gegentheile erwünscht, besonders wenn es sich um grössere und consistentere Stücke handelt; überhaupt sollen die einzulegenden Objecte möglichst klein sein, für gewöhnlich nicht über 1 cbcm gross. Nach der genannten Zeit werden dieselben unmittelbar in eine Celloidinlösung von syrupdicker Consistenz gebracht. Wenn die Einbettung eine sehr difficile sein soll, so ist es angezeigt, zuerst eine noch dünnflüssigere Celloidinlösung anzuwenden und hernach dieselben in eine dickflüssigere zu übertragen. Herstellung der Celloidinlösung: Man setzt zu chemisch reinem Tafelcelloidin, das in kleine Würfel zerschnitten wird, soviel von dem genannten Gemisch von Aether und Alkohol, bis dasselbe zu einer Flüssigkeit von syrupdicker Consistenz sich verwandelt hat. Auch hier verbleiben die Schnitte wiederum mindestens 12 Stunden, noch besser einige Tage. Darauf Herausnahme derselben mit einer Pincette und Auflegen auf einen Mikrotomkork, der (siehe oben) mit einer eingetrockneten Schicht Celloidin, oder wo nicht, wenigstens zuvor mit einer Schicht frischen, flüssigen Celloidins bedeckt ist. Stehenlassen derselben für einige Minuten an der Luft und darauf Einlegen in rectificirten (nicht absoluten) Alkohol, bis das Ganze — was spätestens nach einigen Stunden geschehen ist — zu einer Masse von kautschukartiger Consistenz erstarrt ist. Wenn es sich um sehr feine Objecte handelt, ist es gut, das Präparat an seiner Oberfläche und seinen seitlichen Partieen vollständig mit Celloidin zu umgeben. Die überschüssige Masse kann nach der Erhärtung durch Abschneiden leicht entfernt werden.

Die Mikrotomschnitte werden in gewöhnlicher Weise angefertigt, nur ist wieder zu beachten, dass zu der Befeuchtung des Messers und Objectes rectificirter, und nicht absoluter Alkohol verwendet wird, weil letzterer das Celloidin auflöst. Auch werden die angefertigten Schnitte wiederum in rectificirten Alkohol übertragen. Das Auswaschen geschieht gleichfalls in dieser Flüssigkeit. Zum Aufhellen bediene man sich am besten Origanunöl Ia Qualität (nicht Nelkenöl, weil in demselben das Celloidin aufgelöst wird und dadurch in dem Präparate wolkige Trübungen entstehen) oder was billiger ist, Xylol. In letzterem schrumpfen aber die Schnitte leicht. Conservirung in Canadabalsam.

Sollte es wünschenswerth erscheinen, vor der Färbung die Einbettungsmasse vom Präparate zu entfernen, was für bacterielle Untersuchungen nicht selten nöthig ist, so wird der Schnitt — 5—10 Minuten lang — in das oben erwähnte Gemisch von Aether und Alkohol gebracht, bis das Celloidin vollständig ausgezogen ist, darauf ca 5 Minuten in absoluten Alkohol gelegt und in gewöhnlicher Weise weiter behandelt.

Eine andere, gleichfalls viel gebräuchliche und praktische Methode ist die Einbettung in Gemischen von Wachs und Oel, oder Wachs mit Talg und Oel oder Wachs mit Walrath und Oel. Als Oel kann Olivenöl, Ricinusöl benutzt werden. Es können dabei beliebige Variationen hergestellt werden. Ich möchte folgende Vorschrift empfehlen:

Vorschrift.

Man schmelze gutes, weisses Wachs und reines Olivenöl zu gleichen Theilen oder Cetaceum 3 Theile, Oleum Ricini 1 Theil unter vorsichtigem Erwärmen auf dem Wasserbad oder im Brütofen zusammen. Ist die Masse zu einer homogenen Flüssigkeit umgewandelt, so bringe man die Objecte in dieselbe herein. Letztere selbst werden zuvor noch nach den bei der Celloidinmethode angegebenen Prinzipien behufs besserer Durchtränkung mit der Einbettungsmasse direct aus Alkohol mehrere Stunden lang in Terpentin-, Nelken- oder Bergamottöl gelegt. In dem Einbettungsgemisch müssen sie auf irgend eine Weise mittelst feiner Nadeln, Bindfaden u. s. w. fixirt sein, hernach lässt man dasselbe langsam erkalten. Wird die Masse fest, so zieht sie sich gewöhnlich etwas zusammen, so dass es nöthig ist, noch von dem flüssigen Gemische nachzugiessen. Zweckmässig ist es, das Ausgiessen in Behälter von Carton, Blech u. s. w., die die Form der Mikrotomklammer tragen, erfolgen zu lassen, und dieselben, um das Festhaften der Einbettungsmasse zu vermeiden, zuvor mit einem der genannten Oele auf der Innenfläche auszustreichen. Die Präparate werden nach vollendeter Einbettung in absoluten Alkohol gebracht und dann der weiteren

Digitized by Google

Behandlung unterworfen. Zur Auflösung der Einbettungsmasse bringt man die Schnitte von Alkohol direct ¼—1 Stunde in Nelken- oder Terpentinöl, darauf zurück wieder in Alkohol.

In derselben Manier verfährt man bei Anwendung anderer Proceduren: ich nenne noch weiter die Einbettung in Paraffin.

Man nehme dazu nur gute Sorten. Fol empfiehlt die homogensten, halbdurchsichtigen Stücke und ein Gemisch der weichen, bei 45°—48° C. schmelzbaren und der härteren, bei etwa 55°—60° C. flüssig werdenden Sorte. Handelt es sich um Auflösung der eingeschmolzenen Schnitte, so bedient man sich einer Mischung von Terpentinöl und Creosot zu gleichen Theilen. Es findet dies Verfahren gegenwärtig auf dem Gebiet der Zoologie und Embryologie vielfach Anwendung zur Anfertigung der schon erwähnten Bänderschnitte (siehe Mikrotom).

Brass empfiehlt als besonders zweckmässig die Paraffineinbettung nach vorausgegangener Benzolbehandlung (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1885. B. II. S. 300 ff).

Als weitere Methode ist schliesslich anzuführen die Eiweisseinbettung von Calberla.

Sie mag für bestimmte Zwecke ihre grossen Vortheile haben, besonders wenn es sich um die nachherige Färbung solcher Gebilde, z. B. Mikroorganismen, handelt, bei welchen die obengenannten Einbettungsmassen das richtige Zustandekommen der Tinction erfahrungsgemäss häufig beeinträchtigen. Sie verlangt jedoch eine sehr subtile Ausführung. Betreffs der detaillirten Beschreibung verweise ich auf die Mittheilung des Autors (Morpholog. Jahrbuch II. 1886).

Noch andere mögliche Einbettungsarten, z. B. die von Seife, Kolophonium haben vor den besprochenen nichts Besonderes voraus, weshalb sie hier nicht weiter berührt werden.

Ein mitunter sich nöthig machendes Verfahren besteht in der

VIII. Injection

in das Blut- und Lymphgefässsystem, unter Umständen auch in das Innere drüsiger Organe. Dieselbe kann am lebenden oder abgestorbenen Organismus, in toto oder nur an einzelnen Theilen desselben vorgenommen werden und ist auch in der pathologischen Anatomie, zumal wenn es darauf ankommt, genauere Kenntniss über das Verhalten des Gefässapparates bei bestimmten Processen zu bekommen — Tuberkulose, chronische Entzündung, Amyloid, Neubildungen — nicht zu entbehren. Es würde mich jedoch zu weit führen, dieselbe hier ausführlich zu besprechen. Wer sich eingehender damit vertraut machen will, findet die betreffenden Unterlagen in den Lehrbüchern der normalen Histologie.

Dasselbe gilt auch von der

IX. Künstlichen Verdauung,

deren Vornahme in einzelnen, allerdings seltenen Fällen — z. B. bei knorpligen Substanzen — zur Ergänzung der pathologisch-anatomischen Untersuchungen erforderlich ist, sowie von der

X. Corrosions-Methode,

welche Altmann (Schultze's Archiv 1879 B. 16. S. 471 ff.) zuerst der histologischen Technik zugängig gemacht hat und die auch für unsere Zwecke zur Darstellung der Gewebslücken u. s. w. in manchen Fällen zu versuchen sein dürfte.

Der Vollständigkeit halber erwähne ich noch das

XI. Verfahren des Auspinselns und Ausschüttelns,

das für manche Zwecke, z. B. zur deutlicheren Sichtbarmachung der Gerüstsubstanz lymphatischer Organe u. s. w. sehr vortheilhaft ist. Bei letzterem be-

Digitized by Google

dient man sich am besten der Reagenzgläschen, die mit verschieden grossen Quantitäten destillirten Wassers erfüllt werden. Das Auspinseln geschieht am zweckmässigsten an dem auf dem Objectträger mit einer Nadel fixirten und von einer reichlichen Flüssigkeitsschichte bedeckten Schnitte.

D. FARBSTOFFE UND FÄRBETECHNIK.

Wir werden vermittelst derselben in den Stand gesetzt, in die Structur der verschiedenen Gewebe einen deutlicheren Einblick zu gewinnen, als dies am nicht gefärbten Objecte der Fall ist. Dabei ist jedoch nicht ausser Acht zu lassen, dass gefärbte Theile häufig sich nicht immer unter dem Bilde präsentiren, das der Wirklichkeit entspricht, in Folge von Veränderungen, welche einestheils durch die vorbereitenden Methoden, anderentheils durch die Einwirkung der Farbflüssigkeit in denselben vor sich gegangen sind. Deshalb sollte niemals unterlassen werden, zuerst die Untersuchung am frischen, ungefärbten Präparate vorzunehmen, und die Ergebnisse des Befundes an dem tingirten damit zu vergleichen. Dem Tinctionsverfahren können unter Umständen schon Organe und Gewebe intra vitam unterworfen werden. Davon soll hier abgesehen werden, wir beschäftigen uns nur mit der Färbung abgestorbener Theile. Dieselbe kann grössere Stücke betreffen, die dann in toto durchfärbt werden, ein Verfahren, das in neuerer Zeit mehrfache Anwendung gefunden hat, besonders in der normalen Histologie, und künftighin auch für unsere Zwecke mehr, als es bis jetzt geschehen ist, in Gebrauch zu ziehen sein dürfte wegen der verhältnissmässig geringen Mühe, die es macht und, wenn die Präparate zugleich in Paraffin eingebettet sind, wegen der Möglichkeit fortlaufende Schnittserien zu gewinnen.

Betreffs genauerer Information verweise ich auf die Lehrbücher der normalen Histologie; für hier nur so viel, dass die hierbei einzuschlagende Präparation sich im Wesentlichen nicht unterscheidet von den bei der Färbung überhaupt in Anwendung kommenden Prinzipien, nur muss das Präparatenstück längere Zeit als einzelne Schnitte in der Färbeflüssigkeit verweilen, wobei Grösse und Consistenz noch besonders zu berücksichtigen sind. Die Zeit kann Bruchtheile einer Stunde betragen, sich aber auch über mehrere Stunden hin erstrecken. Dasselbe gilt vom Auswaschen. Zweckmässig ist es, den Farbstoff in der Härtungsflüssigkeit — Alkohol — aufzulösen und mit der Erhärtung zugleich die Färbung vorzunehmen. Nicht jeder Farbstoff, der sich für Schnittpräparate eignet, scheint auch der Durchfärbung grösserer Stücke günstig zu sein. Selbstverständlich ist es, dass die Stücke nicht zu gross sind — durchschnittlich ½ cbcm —.

Um nun auf die Färbung der einzelnen Schnitte zurückzukommen, so bedienen wir uns hierzu bestimmter Farbstoffe, und zwar theils solcher, welche ausschliesslich die Kerne — elective — und solche, welche den Zellleib und sonstige protoplasmatische Substanzen — diffus färbende — tingiren. Eine passende Combination beider stellt die sogenannte Doppelfärbung dar. Mit dem zunehmenden Concentrationsgrad der Färbeflüssigkeit steigt auch gewöhnlich ihre färbende Kraft. Erwärmung — zumeist auf 30°—40° C. — derselben beschleunigt den Process.

Die Färbeflüssigkeiten sind auf das Sorgfältigste herzustellen. Ist die Darstellung derselben eine complicirte, so rathe ich dieselben von zuverlässigen Firmen in bereits fertigem Zustande zu beziehen. Es wird dadurch viel Zeit und Mühe erspart. Als Bezugsquelle kann ich auf Grund mehrjähriger Erfahrung Dr. G. Grübler, physiologisch-chemisches Laboratorium in Leipzig, bestens empfehlen. Eine ausführliche Besprechung der verschiedenen, besonders auch der neueren Färbstoffe findet sich unter Anderem bei Gierke, Färberei zu mikroskopischen Zwecken, Zeitschrift f. wissensch. Mikrosk. 1885. B. II. S. 13ff. u. 164ff.

Digitized by Google

Wir kommen zuerst zu sprechen auf

I. Die Kernfärbung.

Dieselbe bezweckt eine distincte Tinction des Kernes. Wir wenden sie in allen solchen Fällen an, wo es gilt, ein deutliches Bild über die Structurverhältnisse zu erhalten. Verschiedene Methoden stehen uns dabei zu Gebote. Wegen der Einfachheit und Raschheit in der Ausführung bedienen wir uns gegenwärtig sehr häufig der von Weigert zuerst in die Technik eingeführten Anilinfarbstoffe. Ich führe darunter an als besonders geeignet:

1. Das Bismarckbraun (Vesuvin):

Vorschrift.

Zusammensetzung der Lösung: 2,0 gr Bismarckbraun (B. Nr. 128), 66,0 gr Aqu. dest., 34,0 Alkoh. rectificatiss. Erwärmen bis zum Aufkochen, kalt filtriren und einige Tropfen Carbolsäure zusetzen.

Die Schnitte werden aus gewöhnlichem oder absolutem Alkohol 5 Minuten in die Färbeflüssigkeit gelegt, hernach in reichlichem, mehrmals zu wechselndem absolutem Alkohol 5—10 Minuten lang abgespült, bis keine Farbe mehr auszieht, Nelkenöl, Balsam; oder von Alkohol in destillirtes Wasser, Glycerin oder Glycerinleim.

Die Kerne der verschiedensten Gewebselemente nehmen eine exquisit braune Farbe an.

2. Das Gentianaviolett:

Vorschrift.

Zusammensetzung der Lösung: Gentianaviolett (B. R. Nr. 26) 2,0 gr, Aqu. destill. 100,0 gr, Erwärmen bis zum Aufkochen und filtriren.

Die Procedur der Färbung ist ganz dieselbe, wie bei Bismarckbraun, nur tritt hier häufig Ueberfärbung ein, deshalb sehr starkes und längeres, bisweilen ¼ Stunde und noch mehr dauerndes Auswaschen in Alkohol. Da in Nelkenöl noch weiter Farbe auszieht, so ist es zweckmässig, die Schnitte hernach nochmals kurz in Alkohol zu bringen, darauf mit einer neuen Portion Nelkenöl zu durchtränken und sie möglichst bald der Conservirung in Canadabalsam zu unterwerfen. Einlegen in Glycerin und Glycerinleim ist nicht zu empfehlen, da die Farbe allmählich wieder sich verliert.

Die Kerne der verschiedenen Gewebselemente nehmen eine schöne blaue, bisweilen auch ins Dunkelblaue oder Blauröthliche spielende Färbung an.

3. Rubin-Fuchsin:

Vorschrift.

Die Schnitte werden von Alkohol direct in die Färbeflüssigkeit gebracht. Zusammensetzung derselben: 1,0 gr Rubin-Fuchsin, 34,0 gr Alkoh. rectificatissim., 66,0 gr Aqu. dest., bis zum Aufkochen erwärmen, erkalten lassen, filtriren und einige Tropfen Carbolsäure zusetzen. Die Schnitte bleiben 5—10 Minuten in dieser Flüssigkeit liegen, werden darauf reichlich in absolutem Alkohol ausgewaschen, bis keine Farbe mehr auszieht, Nelkenöl und alsbaldige, definitive Conservirung in Balsam. Einlegen in Glycerin und Glycerinleim nicht zweckmässig, da die Farbe darauf allmählich ausgezogen wird.

Die Kerne, insbesondere die des Bindegewebes und der lymphatischen Elemente färben sich intensiv roth.

Eine etwas sorgfältigere Behandlungsweise erfordern die Carminfärbungen (Gerlach). Dieselben ergeben, richtig ausgeführt, vorzügliche und sehr haltbare Kernfärbung. Ein bisweilen recht unangenehm dabei sich fühlbar machender Missstand ist nur der, dass die Farbstofflösungen leicht Zersetzungen anheimfallen und dadurch an ihrer Färbekraft einbüssen oder dieselbe ganz verlieren. Als besonders zweckmässig finde ich die Tinction mit

4. Alauncarmin (Grenacher).

Der besondere Vortheil, den dieselbe hat, besteht darin, dass keine Ueberfärbung eintritt, dass das Auswaschen in destillirtem Wasser das möglichst schonendste Verfahren

Digitized by Google

ist, und dass sie besonders geeignet ist als Nachfärbung in Celloidin eingebetteter Objecte jeder Art, ohne dass dabei die Einbettungsmasse zuvor entfernt zu werden braucht.

Vorschrift.

Die Schnitte werden direct aus destillirtem Wasser minuten- bis stundenlang in die Färbeflüssigkeit gebracht. Der Bequemlichkeit halber empfiehlt es sich, dieselben von einem Tag zum andern in der Flüssigkeit liegen zu lassen, weil dadurch die Färbung sich intensiver gestaltet und auch bei längerer Einwirkung der Farbe keine Ueberfärbung entsteht; ja die Schnitte können ruhig sogar tagelang in der Tinctionsflüssigkeit verweilen. Darnach Auswaschen in reichlichem, mehrmals zu wechselndem destillirtem Wasser, bis dasselbe klar bleibt, und darauf entweder directe Imprägnation mit Glycerin oder Glycerinleim, oder — was noch empfehlenswerther ist — Weiterbehandlung mit Alkohol, aufhellenden Mitteln und Conservirung in Balsam.

Die Kerne zeigen ein schön rothe Farbe mit einer leichten Nuance ins Bläuliche, bisweilen auch ein mehr satteres Blauroth. Zum guten Gelingen der Farbreaction ist gute Vorhärtung in Alkohol nöthig.

Eine gleichfalls bequem zu handhabende Methode ist die Färbung mit

5. Boraxcarmin. Es ist jedoch sowohl bei dieser, wie bei den folgenden Carminfärbungen zu berücksichtigen, dass das Auswaschen in Säuregemischen geschieht, was auf das Gewebe nicht ohne Einfluss ist.

Vorschrift.

Die Schnitte werden direct aus Alkohol oder destillirtem Wasser circa 1½—10 Minuten lang in eine Boraxcarminlösung nach Grenacher gebracht; darauf unmittelbar in folgendes Gemisch übertragen: Alkoh. absol. 70,0, Aqu. dest. 30,0, concentrirte chemisch reine Salzsäure 1,0. Hier bleiben sie bis 5 Minuten lang liegen, unter Umständen mit Wechseln der Flüssigkeit. Darauf werden sie wiederholt in erneutem destillirtem Wasser ausgewaschen, damit die Salzsäure möglichst vollständig entfernt wird, dann in Alkohol gebracht, Nelkenöl, Canadabalsam, oder von Wasser direct in Glycerin oder Glycerinleim.

Die Kerne der verschiedenen Gewebselemente färben sich dabei schön roth, bisweilen behält noch das Protoplasma einen blassrothen Schein.

Nicht minder vorzügliche und sehr instructive Bilder ergibt die von Orth (Cursus der normalen Histologie 1886, S. 57) angegebene Färbung mit

6. Pikrolithioncarmin. Ich gebe dieselbe in einer etwas modificirten Form in Verbindung mit einer Nachfärbung von Pikrinsäure wieder.

Vorschrift.

Die Schnitte werden, nachdem sie zuvor einige Minuten in Aqu. destill. gelegen, 24 Stunden lang in Lithioncarminlösung gebracht (nach Orth'scher Vorschrift), darauf direct in salzsäurehaltigem Alkohol 2 Stunden lang ausgewaschen (Zusammensetzung desselben: Alkoh. absol. 70,0, Aqu. dest. 30,0, concentrirte chemisch reine Salzsäure 1,0). Daran schliesst sich ein 5 Minuten langes Auswaschen in destillirtem Wasser, darauf wieder auf einige Minuten Einlegen in absoluten Alkohol, hierauf so lange Behandlung mit einer dünnen, alkoholischen Pikrinsäurelösung von blasscitronengelber Färbung, bis die Schnitte diese Farbe angenommen haben, Auswaschen in Alkohol, bis keine gelbe Farbe mehr ausgeschieden wird, alsbaldiges Einlegen in Nelkenöl und Balsam.

Die Kerne bekommen eine schön sattrothe Farbe, während sich Protoplasma, Bindesubstanzen, Fibrin u. s. w. gleichmässig gelb färben. Besonders zweckmässig, um die Zellform von Neubildungen deutlich hervortreten zu lassen.

Vorsichtige Ausführung erfordert, aber gleichfalls schöne Resultate liefert die Tinction mit

7. Saurem Carmin nach Schweigger-Seidel.

Vorschrift.

(Präcise Ausführung nöthig, besonders betreffs des Auswaschens.)

Die Schnitte werden aus destillirtem Wasser 24 Stunden in die Carminlösung gelegt darauf 9—12 Stunden in einem Gemisch von 1 Theil chemisch reiner Salzsäure und

Digitized by Google

10 Theilen Glycerin suspendirt, hernach 15 Minuten in mehrfach zu wechselndem destillirtem Wasser abgespült. Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Zu empfehlen ist es, zeitweise zur Controle einen Schnitt aus der Flüssigkeit zu entnehmen und weiter zu präpariren, um sich von dem Ausschlag der Färbung zu überzeugen.

Die Kerne färben sich intensiv roth, Muskeln, Bindesubstanzen, Zellprotoplasma nehmen einen blassrothen Farbenton an.

8. Auch das Pikrocarmin in der von RANVIER angegebenen und von WEIGERT modificirten Lösung ist eine recht zweckmässige Färbung. Allerdings ist es leicht zersetzlich und setzt sorgfältige Zubereitung und vorsichtiges Auswaschen voraus.

Vorschrift.

Die Schnitte werden aus destillirtem Wasser circa 5 Minuten (höchstens 10 Minuten) in die Farbstofflösung gebracht und hernach in einem Gemisch von 1 Theil chemisch reiner Salzsäure und 100 Theilen Glycerin ½—¾ Stunde gelegt; darauf 5—10 Minuten lang in reichlichem destillirtem Wasser Abspülen und Einlegen in Glycerin oder Glycerinleim, oder Weiterbehandlung mit Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

Es entsteht durch diese Farbreaction eine sehr schöne Differenzirung zwischen Kernen und Protoplasma: erstere zeigen eine kirschrothe Farbe, letzteres (insbesondere das der Muskelfasern, ferner Hornsubstanzen, Fibrin, Colloidmassen) bietet eine diffus gelbe Färbung dar.

Um die mit der Zeit aus dem Gewebe diffundirende gelbe Färbung haltbarer zu machen, ist es gut, nach dem Abspülen in destillirtem Wasser die Schnitte noch auf 5 Minuten in eine Auflösung von Pikrinsäure in absolutem Alkohol von strohgelber Farbe zu bringen und hernach in gewöhnlicher Weise mit destillirtem Wasser, Glycerin oder Glycerinleim weiter zu behandeln, oder die Conservirung in Balsam vorzunehmen.

Den bisher angeführten stellt sich ebenbürtig an die Seite die altbewährte Färbung mit

9. Haematoxylin. Verschiedene Vorschriften, sowohl was Darstellung der Färbeflüssigkeit wie Färbung selbst betrifft, sind hierzu angegeben. Ich erwähne nur die von KLEINENBERG, FRIEDLÄNDER, EHRLICH, BÖHMER, welche alle gleich gute Resultate liefern. Ich gebe dazu speciell folgende

Vorschrift.

Die Schnitte werden aus destillirtem Wasser 5—10 Minuten lang in eine der genannten Lösungen, wozu ich besonders die BÖHMER'sche empfehle, gebracht, und wenn eine distincte blaue Kernfärbung entstanden ist, was mittelst des Mikroskopes controlirt werden muss, einfach 5—10 Minuten lang in reichlichem destillirtem Wasser ausgewaschen. Ist der Kern zu intensiv gefärbt (schwarzblau bis schwarz), so werden die Schnitte aus Wasser in eine ½ prozentige Alaunlösung übertragen, bis die Blaufärbung eingetreten ist. Haben sich ausser den Kernen noch Protoplasma und Bindesubstanzen tingirt, so müssen die Schnitte einige Minuten bis ¼ Stunde in ein Gemisch von 1 Theil concentrirter, chemisch reiner Salzsäure, 70 Theilen Alkoh. rectificatiss., 30 Theilen Aqu. dest. gebracht werden, bis isolirte Kernfärbung eingetreten ist. Darauf reichliches und langes Abspülen in destillirtem Wasser; Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Conservirung in Glycerin und Glycerinleim empfiehlt sich nicht, da die Färbung allmählich verloren geht.

Es färben sich bei dieser Methode Kerne jeder Art in genannter Weise. Deshalb als Kernfärbemittel sehr zweckmässig. Sehr gut lassen sich damit Doppelfärbungen verbinden (siehe unten).

Eine besondere Bedeutung beanspruchen

II. Die Färbungen der Mikroorganismen.

Dieselben finden, soweit sie frische Objecte — Trockenpräparate — betreffen, im zweiten Theile ihre ausführliche Besprechung. Hier sollen nur diejenigen, welche an Schnittpräparaten auszuführen sind, ihre Erledigung finden.

Mikroorganismen lassen sich mit den verschiedensten kernfärbenden Farbstoffen tingiren. In früherer Zeit bediente man sich dazu mit Vorliebe des

Digitized by Google

Carmins und Haematoxylins. Dieselben ergaben jedoch nicht immer constante und zuverlässige Resultate und liessen auch, was Darstellung betrifft, häufig Manches zu wünschen übrig. WEIGERT's Verdienst ist es, zuerst gezeigt zu haben, welche wichtige Rolle die Anilinfarben dabei spielen, und in welcher Weise sie zweckmässig zu verwerthen sind. Zu welch weittragenden Entdeckungen dies Veranlassung gegeben, davon zeugen am besten die Untersuchungen von KOCH und EHRLICH (Siehe dazu u. A. die bezüglichen Mittheilungen von WEIGERT, z. B. VIRCHOW's Archiv 1881. Bd. 84. S. 285. Die Untersuchungen von KOCH über Tuberkulose und Milzbrand, Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesund.-Amt, I. und II. Band, die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten u. s. w., und die von EHRLICH z. B. Zeitschr. f. klin. Medic. B. I. 1880, und eine Zahl anderer kleiner Mittheilungen).

Trotzdem sind wir über die Art und Weise, wie die Wirkung des Farbstoffes dabei aufzufassen ist, nur wenig orientirt, und sind über allgemeine Vorstellungen bis jetzt nicht hinausgekommen. Nach EHRLICH, der sich speciell mit diesem Gegenstand eingehender beschäftigt hat, muss man bei jedem Farbstoffe seine „elective" und „tinctoriale" Kraft unterscheiden. Unter letzterer ist zu verstehen die Attractionskraft, mit der die einzelnen Organtheile die verschiedenen Farbstoffe äusseren Einwirkungen — chemischen Agentien — gegenüber festzuhalten vermögen. Erstere dagegen äussert sich in der chemischen Affinität, welche der Farbstoff bestimmten Zellbestandtheilen und zwar Kernen, Bacterien gegenüber äussert. Es ist darnach der Färbungseffect nichts weiter als der Ausdruck einer chemischen Reaction, welche sich zwischen Farbstoff und bestimmten Gewebsbestandtheilen vollzieht, anzusehen. Es beruht dies Verhalten im Wesentlichen mit auf der chemischen Zusammensetzung der Farbstoffe selbst. EHRLICH theilt die Farbstoffe ein in solche, welche die Rolle einer Basis und solche, welche die einer Säure spielen.

Erstere färben mit wenigen Ausnahmen Mikroorganismen und Kernsubstanz und kommen deshalb für unsere Zwecke hauptsächlich in Betracht. Die am gewöhnlichsten gebräuchlichen sind: Bismarckbraun (Vesuvin), Gentianaviolett, Methylviolett, Fuchsin, Methylenblau. Ausser diesen können noch verwendet werden: Cyanin, Dahlia, Methylgrün, Safranin. Man nimmt dazu stärkere oder schwächere Auflösungen derselben in destillirtem Wasser, bisweilen mit einem geringen Zusatz von rectificirtem Alkohol und lässt sie entweder so lange auf die Schnitte einwirken, bis die Mikroorganismen (und Kerne) gerade deutlich gefärbt sind, oder es wird die Dauer der Farbstoffwirkung um Minuten bis Stunden verlängert, damit eine Ueberfärbung eintritt und erst hernach wird durch entsprechendes Auswaschen die Tinction auf die richtige Norm zurückgeführt. Diese zweite Procedur, welche zuerst FRIEDLÄNDER ausgeübt hat, ist gegenwärtig die weitaus gewöhnliche, in jeder Beziehung zu empfehlen und liefert sehr schöne und haltbare Bilder. Es schadet nichts, besonders wenn es sich um Herstellung von Dauerpräparaten handelt, wenn die Färbung im Anfange eine etwas zu starke ist, da mit der Zeit auch in Balsam noch Farbstoff auszieht. Sehr wichtig, damit der gewünschte Erfolg eintritt, ist ein richtiges Auswaschen der Präparate. Es wird dies gewöhnlich in rectificirtem, noch besser in absolutem Alkohol, der säurefrei sein muss, vorgenommen. Derselbe ist öfters, und zwar so lange zu wechseln, bis kein Farbstoff mehr auszieht. Letzteres wird auch durch ätherische Oele, Nelkenöl u. s. w., wenn auch in geringerem Grade hervorgerufen. Die Dauer des Ausziehens ist variabel und beläuft sich auf Minuten bis Stunden. Bei einer richtigen Combination dieser beiden Proceduren kann man je nachdem Mikroorganismen- und Kernfärbung zugleich bewerkstelligen, oder aber stärkere Mikroorganismen und geringere Kernfärbung. In letzterem Falle entsteht ein deutlicheres Hervortreten der Mikroorganismen gegenüber den Kernen, was in

Digitized by Google

vielen Fällen erwünscht ist. Es ist dies Verfahren, wenn auch etwas umständlich, immerhin sehr schonend und vielfach allein schon genügend. In weit vollkommnerer Weise wird dies erreicht, wenn zum Auswaschen bestimmte chemische Stoffe entweder in reinem Zustande verwendet oder dem Alkohol beigegeben werden. Es können dies Salze sein, z. B. Chlornatrium, Natron bicarbonicum, Kali hypermanganicum u. s. w., aber auch Säuren, z. B. Essigsäure in dünnerer — 1% — Lösung. Es gelingt dann, eine völlig isolirte Färbung der Mikroorganismen zu erzeugen, während die Kerne und übrigen Gewebsbestandtheile ihren Farbstoff abgeben und vollkommen blass erscheinen. Die GRAM'sche Methode basirt im Wesentlichen darauf, im Gleichen die von LUSTGARTEN zur Färbung der „Syphilisbacillen" und bis zu einem Grade auch die Darstellung der Tuberkelbacillen (KOCH u. A.). Zum Nachweis vereinzelter Mikroorganismen oder bestimmter Arten derselben ist dies Verfahren sehr werthvoll und verdient bei neueren, hierauf bezüglichen Untersuchungen berücksichtigt und noch weiter variirt zu werden. Speciellere Untersuchungen hierüber hat, gerade was die Einwirkung der genannten Salzlösungen betrifft, GOTTSTEIN (Fortschr. der Medic. 1885. S. 627) angestellt.

Ein wichtiges Unterstützungsmittel zum Zustandekommen der Färbung bildet die Wärme. Man bedient sich dazu Temperaturen von 40°—50° C. Die Tinction wird dadurch zugleich häufig beschleunigt. Man kann dabei entweder in der Weise verfahren, dass man die in der Färbeflüssigkeit suspendirten Schnitte minuten- bis stundenlang in den Brütofen bringt, oder dass man die Flüssigkeit, in der sie sich befinden, direct über der Flamme einer 5—10 Minuten dauernden, vorsichtigen Erwärmung unterwirft. Die Flüssigkeit darf dabei nicht stärker erhitzt werden, als bis leichte Dämpfe von ihr aufsteigen.

Ausser Mikroorganismen und Kernen tingirt sich nach den angegebenen Prinzipien auf das Protoplasma der sogenannten Plasma- oder Mastzellen, was zur Vermeidung von Irrthümern nicht ausser Acht zu lassen ist. Auch kolloide Massen, sowie die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels nehmen zuweilen die Tinction an.

Was endlich die sauren Anilinfarbstoffe betrifft, so nenne ich darunter Eosin, Aurantia, Pikrinsäure, Purpurin. Dieselben kommen für uns nur indirect in Betracht, da sie nur das Zellprotoplasma, und zwar in diffuser Weise färben, und als Doppelfärbungen zu verwenden sind.

Kommen wir nun auf die Ausführung der Färbung selbst zu sprechen, so schicke ich zuerst einige Vorschriften voraus, nach denen sich eine ganze Zahl von Mikroorganismen darstellen lassen, und welche als eine Art von Universalfärbung bezeichnet werden können. Sie sollten, wenn es sich um das Aufsuchen von Mikroorganismen überhaupt, insbesondere aber noch unbekannter Formen handelt, jedesmal zuerst in Anwendung gezogen werden.

1. Methode der Ueberfärbung und des langdauernden Auswaschens in Alkohol und Nelkenöl.

Vorschrift.

Man bringt die Schnitte aus Alkohol in eine 2%ige Gentianaviolettlösung (Gentianaviolett B. R. No. 26, 2,0 gr Aqu. dest. 100,0 gr; Erwärmen bis zum Aufkochen, Erkaltenlassen, Filtriren). In derselben bleiben sie 10—15 Minuten liegen, darauf werden sie 1½ bis mehrere Stunden lang in reichlichem, mehrmals zu wechselndem absol. Alkohol ausgewaschen, bis keine Farbe mehr auszieht, dann ca. ½ Stunde in Nelkenöl gelegt, damit noch weiterer Farbstoff ausgeschieden wird, hernach wieder 5—10 Minuten in Alkohol gebracht und in Nelkenöl angesehen. Gewöhnlich zeigen nun die Mikroorganismen eine distincte und intensiv blaue Farbe, während die Kerne eine etwas blassere Tinction tragen. Kommt es darauf an, die Kernfärbung noch etwas mehr erblassen zu machen, so kommen die Schnitte wieder in Alkohol zurück und bleiben dort noch einige Stunden. Ist der Effect noch nicht erreicht, so werden sie noch einige Stunden in Nel-

Digitized by Google

kenöl gelegt; kurz durch stetes Wechseln dieser beiden Flüssigkeiten kann es schliesslich soweit gebracht werden, dass die Mikroorganismen noch schön gefärbt sind, während die Kernfärbung beträchtlich geschwunden ist. Es erfordert dieses Verfahren aber Aufwand von Zeit und Mühe und grosse Sorgfalt; nicht minder sind dünne Schnitte dazu nöthig. Es darf dabei der richtige Zeitpunkt nicht versäumt werden, sonst leidet die Färbung der Mikroorganismen selbst Noth. Deshalb müssen die Schnitte von Zeit zu Zeit der mikroskopischen Controle unterworfen werden. Die Methode ist sehr zu empfehlen, weil sie auf die Form der Gebilde nicht alterirend einwirkt; so z. B. zeigen Milzbrandbacillen dabei eine wahrhaft ideale Färbung, während sie bei der GRAM'schen Methode leicht schrumpfen. Es lassen sich damit noch gut Nachfärbungen verbinden. Die Schnitte sind möglichst bald aus dem Nelkenöl in kaltem, nicht zu dünnflüssigem, mit Xylol verdünntem Canadabalsam zu conserviren.

Es färben sich auf diese Weise unter Mikrokokken die der Pyaemie, der puerperalen Affectionen, des Erysipels, der Endocarditis ulcerosa, sowie die der Fäulniss und septischen Processe; von Bacillen die des Milzbrandes, der Cholera, des Abdominaltyphus (letztere besser bei gleichzeitigem Erwärmen), sowie einzelne der bei Fäulniss vorkommenden Formen.

2. GRAM'sches Verfahren (Fortschritte der Medicin. 1884. S. 185).

Vorschrift.

Man bereite sich zuerst eine Anilinölwasser-, Gentianaviolett- oder Fuchsinlösung in folgender Weise: käufliches Anilinöl 5 Theile, Aqua destill. 100 Theile mit einander vermischt, mehrmals stark umgeschüttelt, absitzen gelassen und die Flüssigkeit, wenn sie klar geworden, durch ein zuvor angefeuchtetes Filter vorsichtig filtrirt. Zu 100 Theilen des Filtrates werden 5 Theile einer gesättigten alkoholischen Gentianaviolett- oder -Fuchsinlösung gesetzt und das ganze stark umgeschüttelt.

In diese Flüssigkeit werden die Schnitte aus Alkohol auf die Dauer von 5 Minuten gebracht und darauf unmittelbar eine bis höchstens zwei Minuten in verdünnter LUGOL'scher Lösung abgespült, die folgendermassen hergestellt wird: Jodkalium 1,0, Aqu. dest. 20,0, Jod. metall. soviel sich löst, und diese mit dem 3fachen Volumen destillirten Wassers verdünnt. Die Flüssigkeit färbt sich durch die hereingebrachten Schnitte schmutzig roth-braun. Darnach werden die letzteren direct in reichlichen absol. Alkohol übertragen und bleiben unter Abspülen in erneutem Alkohol solange — gewöhnlich nicht über einige Minuten — daselbst, bis sie eine gleichmässig blassgelbe Farbe angenommen haben. Sollten die Schnitte länger, als angegeben, in der Färbeflüssigkeit gelegen haben oder letztere zu concentrirt gewesen sein, so wird das abwechselnde Abspülen in LUGOL'scher Lösung und Alkohol so lange fortgesetzt, bis die erwähnte Färbung eingetreten ist. Aus Alkohol kommen die Präparate in Nelkenöl, besser in Cedernöl und möglichst bald in Canadabalsam.

Die Mikroorganismen bieten eine scharfe und distinct blaue bezüglich rothe Färbung dar, während die sämmtlichen Gewebsbestandtheile vollkommen blass resp. blassgelb erscheinen. Zweckmässig lassen sich damit noch Doppelfärbungen verbinden, z. B. mit Bismarckbraun, Hämatoxylin, welche nach den oben angegebenen Prinzipien ausgeführt werden.

Die sämmtlichen unter 1. genannten Organismenformen färben sich nach dieser Methode mit Ausnahme der Typhus- und Cholerabacillen, welche dadurch entfärbt werden.

3. Methode der isolirten Bacterienfärbung nach KOCH.

Vorschrift.

Herstellung der Färbeflüssigkeit: 1 cbcm concentrirte alkoholische Lösung von Methylenblau, 200 cbcm destillirtes Wasser, 0,2 cbcm einer 10%igen Kalilauge (schwache alkoholische Lösung von Methylenblau). In dieser Flüssigkeit bleiben die Schnitte 5—10 Minuten. Darauf kommen sie in eine zweite Lösung von kohlensaurem Kali (Zubereitung: gesättigte Auflösung von Kali carbonicum in aqua destill. mit dem Gleichen destillirten Wassers verdünnt), wo sie ungefähr 5 Minuten verbleiben. Darauf kurzes Abspülen in Wasser, Alkohol, Cedernöl, Canadabalsam.

Die bisher angeführten Bacterienformen bieten dabei eine schön blaue Tinction dar.

Digitized by Google

4. Universalbacterien-Färbung nach Löffler. (Untersuchung über die Bedeutung der Mikroorganismen u. s. w. Mittheilung aus dem kaiserl. Gesund.-Amt, 1884. B. II. S. 439.)

Vorschrift.

Herstellung der Färbeflüssigkeit: 30 cbcm concentrirte alkoholische Lösung von Methylenblau, 100 cbcm Kalilauge von 1 : 10000 (starke alkalische Lösung von Methylenblau). Die Schnitte kommen 5—10 Minuten in die Flüssigkeit, darauf unmittelbar auf einige Secunden in ½—1%ige Essigsäure unter stetem Hin- und Herbewegen vermittelst der Pincette. Hernach werden sie 5—10 Minuten in Alkohol gebracht, dann in Cedernöl gelegt und in Balsam conservirt.

Sämmtliche obgenannten Mikroorganismen nehmen dabei eine schön blaue Färbung an, speciell Tuberkelbacillen, Typhusbacillen, die sonst schwer färbbaren Recurrensspirochäten, ferner die Rotzbacillen, welche, wenn sie mit Anilinölwasserfarbstofflösung tingirt sind, die Essigsäure entfärbt, ausserdem die Bacillen der Septicämie der Mäuse und Kaninchen, Schimmelpilzmycelien und die von Löffler bei seinen Untersuchungen über Diphtherie gefundenen Mikroorganismen.

5. Der leichteren Orientirung halber sollen nun die auf die verschiedenen, bis jetzt bekannten Mikroorganismen anwendbaren Färbemethoden im Einzelnen angeführt werden:

a) Cholera asiatica:

Vorschrift.

Die Färbung tritt ein mit Zuhilfenahme der Vorschriften 1. 3. und besonders 4. Nach der Gram'schen Methode sollen die Bacillen (Friedländer) entfärbt werden.

Die speciellere Angabe von Koch ist, dass die Schnitte vom Darm, welcher in absolutem Alkohol gut gehärtet sein muss, am besten in einer starken wässerigen Methylenblaulösung 24 Stunden lang oder unter Erwärmen kürzere Zeit gefärbt und dann in gewöhnlicher Weise weiter behandelt werden sollen (Deutsche medicin. Wochenschrift 1884. No. 32).

b) Hühner-Cholera:

Folgende Vorschrift habe ich sehr erprobt gefunden: Man bringt die Schnitte aus Alkohol 10 Minuten bis 24 Stunden in die Anilinölwasser-Gentianaviolettlösung (Zusammensetzung siehe sub 2). Darauf werden sie 10 Minuten bis einige Stunden lang in absolutem Alkohol ausgewaschen. Sollten sie nach dieser Zeit noch überfärbt sein, so werden sie in erneuten Alkohol gebracht, der leicht mit Essigsäure angesäuert ist (auf ein mittelgrosses Uhrschälchen 2—3 Tropfen einer 2 prozentigen Essigsäure). Hernach Abspülen in reichlichem destillirtem Wasser. Alkohol, Cedern- oder Nelkenöl, Balsam.

Die Kokken nehmen eine schöne himmelblaue Farbe an. Untersuchung mit hohen Trockensystemen oder Oelimmersionen. Nach diesen Methoden färben sich auch ein grosser Theil der unter den Universalfärbmethoden genannten Mikroorganismen. Sehr schön machen sich dabei Doppelfärbungen z. B. mit Eosin.

c) Diphtherie:

Färbung nach der sub 4 angegebenen Universalbacterienfärbung nach Löffler (Mitth. aus d. kais. Ges.-Amt 1884. B. II. Seite 439).

Eine weitere Methode, in diphtherischen Belagen des Menschen vorkommende Mikroorganismen nachzuweisen, ist folgende: Man bringt die Schnitte in eine gesättigte wässerige Lösung von Rubin-Fuchsin, wäscht sie darauf mindestens 5—10 Minuten lang in absolutem Alkohol aus, bis kein Farbstoff mehr auszieht, darauf Cedern- oder Nelkenöl und baldiges Einlegen in Balsam.

Die Mikroorganismen nehmen eine intensiv rothe Farbe an.

d) Erysipel:

Färbung nach 1., besonders 2., 3. und 4.

Digitized by Google

e) Lepra:

Vorschrift.

Die Bacillen verhalten sich Tinctionen gegenüber ganz ähnlich wie Tuberkelbacillen, und unterscheiden sich, wie durch BAUMGARTEN (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1884. Seite 368 ff.) gezeigt worden ist, nur dadurch von jenen, dass sie leichter die Farbe annehmen und schon zu einer Zeit die Tinction darbieten, wo die Tuberkelbacillen noch nicht gefärbt erscheinen. Die betreffende Vorschrift BAUMGARTEN's lautet: Man bringt die Schnitte (aus Alkohol) 12 bis höchstens 15 Minuten in eine Fuchsinlösung, welche man sich in folgender Weise bereitet: gesättigte alkoholische Lösung von Fuchsin (Rubin-Fuchsin), und davon 5—6 Tropfen in ein mit Aqu. destill. erfülltes kleines Uhrschälchen gegossen. Darauf werden sie ½ Minute in einem Gemisch von 1 Theil reiner Salpetersäure und 10 Theilen Alkohol ausgewaschen, hernach in destillirtes Wasser gebracht und, nachdem sie 3—4 Minuten dort verweilt, in absol. Alkohol übertragen und in Bergamottöl aufgehellt. Conservirung in Canadabalsam. Untersuchung mit ZEISS, homogen. Immers. und offenem ABBE'schem Condensor.

Die Bacillen zeigen eine exquisit rothe Farbe.

f) Milzbrand, Osteomyelitis, Pyämie, Puerperalfieber, Endocarditis ulcerosa, Rheumatismus articul. acutus (Gelenkeiter):

Nach den oben angegebenen Vorschriften: (1., 2., 3. und 4.)

g) Pneumonie-Kokken (FRIEDLÄNDER, Mikrosk. Technik 1886. S. 58):

Vorschrift.

Man bringt die Schnitte 2—24 Stunden lang in eine Lösung folgender Zusammensetzung: Gentianaviolett in Alkohol, gesättigte Lösung 50,0 gr, destill. Wasser 100,0 gr, Acid. acet. concentr. 10,0 gr. Darauf werden sie in 1 prozentiger Essigsäure wenige Minuten lang entfärbt; Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

Bei richtiger Entfärbung erscheint die Kapsel der Mikroorganismen schwächer blau gefärbt, als die centrale Partie. Ist die Entfärbung zu schwach gewesen, so trägt auch die Kapsel eine intensive Tinction, im umgekehrten Falle verliert dieselbe ihre Farbe vollkommen. Vorsichtige Ausführung der Methode ist deshalb hier besonders nöthig.

h) Recurrens:

Vorschrift.

Die Färbung gelingt nach KOCH's Untersuchungen (Mittheil. aus d. kaiserl. Gesundheitsamt 1881. B. I. Seite 10) durch Behandlung mit „braunen Anilinfarben". Dieselbe ist jedoch „nicht sehr kräftig". Ich empfehle dazu unsere 2 prozentige Bismarckbraunlösung zu verwenden nach den sub 1 angegebenen Prinzipien: langes Verweilen in der Farbflüssigkeit und protrahirtes Auswaschen.

Eine gute Färbung soll auch zu Stande kommen nach HUEPPE bei Anwendung der Methode 4.

i) Rotz:

Nach der LÖFFLER'schen Universalbacterienfärbung (4).

k) Septicämie der Mäuse und Kaninchen:

Färbung nach Methode 4.

l) Syphilis:

Unter den in neuerer Zeit von verschiedenen Seiten angegebenen Methoden führe ich an:

1. Die von LUSTGARTEN (die Syphilisbacillen, Wiener Medicin. Jahrbücher 1885):

Verhärtung der Präparate in absolutem Alkohol, Einbettung in Celloidin, Auflösen des Celloidins an den Schnittpräparaten, Einbringen der einzelnen Schnitte in Alkohol und hernach in folgende Farbstofflösung: 100 Theile Anilinölwasser — 5:100 —, 11 Theile concentrirte alkoholische Gentianaviolettlösung, wo sie 12—24 Stunden bei Zimmertempe-

Digitized by Google

ratur liegen bleiben und im Anschluss daran noch 2 Stunden bei 40° C. im Wärmekasten verweilen. Darauf folgt ein mehrere Minuten langes Abspülen in absolutem Alkohol, dann ein 10 Secunden langes Auswaschen in ca. 3 cbcm einer 1½ prozentigen wässrigen Lösung von übermangansaurem Kali, wobei ein brauner flockiger Niederschlag von Manganhyperoxyd entsteht, mit dem sich das Präparat beschlägt. Nun werden die Schnitte weiter in eine wässerige Lösung von reiner schwefliger Säure — dargestellt durch Behandlung von metallischem Kupfer mit Schwefelsäure gebracht darauf für einen Augenblick in destillirtes Wasser, und beides abwechslungsweise einige Male wiederholt, bis sie vollkommen farblos geworden sind. Sodann Entwässerung in Alkohol, Aufhellen in Nelkenöl und Conservirung in Xylol-Balsam.

2. Die von Doutrelepont und Schütz:

Vorhärtung in absolutem Alkohol. Aufweichen der Stücke in destillirtem Wasser und Anfertigung von Gefriermikrotomschnitten. Letztere werden einige Minuten in ½ prozentige Kochsalzlösung gebracht und von da aus auf 5—10 Minuten in absoluten Alkohol eingetragen. Darauf kommen sie in eine wässrige 1 prozentige Gentianaviolettlösung, wo sie 24—48 Stunden verbleiben. Nach dieser Zeit werden die Schnitte einige Secunden in einem Salpetersäure-Gemisch — 1—15 aqu. dest. — abgespült und dann 5—10 Minuten in 60 prozentigen, einmal zu erneuernden Alkohol gebracht, bis sie eine blassveilchenblaue Farbe angenommen haben. Darauf werden sie noch einige Minuten in eine schwache und durchsichtige wässrige Lösung von Saffranin eingelegt; wenn sie eine intensiv rothe Farbe angenommen haben, in 60 prozentigem Alkohol rasch abgespült, für einige Secunden in absolutem Alkohol entwässert. Cedernöl. Canadabalsam.

Untersuchung bei gering abgeblendetem Abbe'schem Condensor und bei homogener Immersion 1/12.

m) Tuberkel-Bacillen.

Als unbedingt zuverlässige und sichere Methode empfehle ich zuerst diejenige von Koch (Mittheil. aus dem kaiserl. Gesund.-Amt, 1884. B. II. Seite 10):

Gute Vorhärtung der Stücke in Alkohol nöthig. Die Schnitte werden direct aus letzterem 24 Stunden lang in die Farblösung gebracht. (Zusammensetzung derselben: 100 cbcm Anilinölwasser — 5 Theile Anilinöl auf 100 Theile aqu. dest. u. s. w. — 11 cbcm concentrirte alkoholische Methylviolett- oder Fuchsinlösung. 10 cbcm absol. Alkohol). Hernach werden sie durch verdünnte Salpetersäure (1 Theil reine Salpetersäure, 3 Theile aqu. dest.) einige Secunden lang gezogen, dann einige Minuten lang in 60 prozentigem Alkohol abgespült, darauf 2 Minuten in die gewöhnliche Bismarckbraun- oder Methylenblaulösung (siehe Kernfärbung) gebracht, wiederholt in 60 prozentigem Alkohol abgespült, in absol. Alkohol entwässert. Cedernöl. Canadabalsam. Letzterer muss mit Terpentinöl verdünnt sein. Sehr dickflüssiger Balsam, welcher erst erwärmt werden muss, darf nicht verwendet werden, weil beim Erwärmen die Tuberkelbacillen schnell entfärbt werden.

Gleichfalls zuverlässige Resultate ergeben Färbungen nach der Vorschrift von Ziehl-Neelsen (angeführt bei Johne, Fortschritte der Medicin 1885. No. 7. Congenitale Tuberkulose u. s. w.).

Die Schnitte werden 15—20 Minuten in folgende Flüssigkeit gebracht: Fuchsin 1,0 gr, Alkoh. absol. 10,0 gr, 5 prozentiges Carbolwasser 100,0 gr, darauf in 25 prozentiger, wässriger Schwefelsäurelösung entfärbt, in 60 prozentigem Alkohol abgespült und eventuell noch 3 Minuten in 5 prozentige wässrige Methylenblaulösung gebracht. Wiederholtes Abspülen in Alkohol absol. Cedernöl, Balsam.

Sehr praktisch ist, wenn zugleich mit der Tinction der Bacillen eine deutliche Färbung der Kerne verbunden werden soll, folgende Methode, die mir durch Dr. Franke, Assistent am städtischen Krankenhause in Braunschweig mitgetheilt wurde:

Die Schnitte werden aus Wasser 1 Stunde lang in die Böhmer'sche Hämatoxylinlösung (Kernfärbung No. 9) gelegt, darauf 5—10 Minuten in einige Male zu wechselndem, destillirtem Wasser abgespült und in die oben (Koch) angegebene Anilinölwasserfuchsinlösung übertragen. Daselbst bleiben sie 12—24 Stunden liegen und werden darauf so

Digitized by Google

lange in salzsauren Alkohol gebracht (1 : 100), bis sie eine schwach bläulich rothe Farbe angenommen haben — Dauer ca. 1/4—1/2 Stunde —, hernach in mehrmals zu wechselndem Alkohol ausgewaschen. Nelken-, besser Cedernöl, Balsam.

Die Bacillen zeigen eine schön rothe Färbung und setzen sich dadurch scharf ab gegenüber den Gewebskernen, welche intensiv blau gefärbt sind.

Ausser diesen existiren noch eine ganze Zahl von Vorschriften, die im Grunde ganz dasselbe leisten, und welche ich deshalb nicht im Einzelnen aufführe. Unter denselben nenne ich noch speciell die von BAUMGARTEN (Zeitschr. f. klin. Medic. Bd. IX u. X) publicirten und sehr zweckmässigen Methoden zur Erzeugung einer combinirten Färbung der Kerntheilungsfiguren und Bacillen, sowie diejenigen von PETERS (die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen. Leipzig 1886. O. Wigand), welche sich wegen der Haltbarkeit der Bacillenfärbung empfiehlt.

Ich habe es zweckmässig gefunden, die zum Auswaschen gebräuchlichen Säuregemische vor der Anwendung mit 1/3—1/4 Volumen destillirten Wassers zu verdünnen und die Schnitte abwechselnd in diesen sowie in rectificirtem Alkohol abzuspülen, bis sie eine fahlblassgrüne Farbe angenommen haben. Das Verfahren ist dadurch zwar etwas verlängert, aber viel schonender. Ausserdem erwärme ich die Färbeflüssigkeit, ehe die Schnitte aus derselben herausgenommen werden, gewöhnlich noch 1/4 Stunde lang im Brütofen auf 40° C. Jedesmalige frische Darstellung der Farbeflüssigkeit ist zum unbedingt sicheren Nachweis der Bacillen erforderlich.

n) Typhus abdominalis:

Vorschrift.

Die Schnitte kommen aus Alkohol 24 Stunden lang in eine Methylenblaulösung (Zubereitung: gesättigte alkoholische Methylenblaulösung in destillirtes Wasser eingegossen, bis das Ganze eine tiefblaue, undurchsichtige Färbung angenommen hat; jedesmaliges frisches Darstellen der Flüssigkeit nöthig) und darauf Abspülen in reichlichem, reinem destillirtem Wasser, bis keine Farbe mehr auszieht. Entwässerung in absolutem Alkohol; Terpentinöl; Canadabalsam.

Die Bacillen nehmen eine schön blaue Farbe an. Zum Aufsuchen der in Herden gelagerten Bacillen: ZEISS System A A, Ocular IV; zur genaueren Untersuchung der Herde selbst: homog. Immers. 1/12, Ocular II zweckmässig, mit ABBE'schem Beleuchtungsapparat (Mittheil. aus dem kaiserl. Gesund.-Amt, 1884. B. II. Seite 378, GAFFKY zur Aetiologie des Abdominaltyphus). Bemerken möchte ich noch, dass 12—24 Stunden längeres Liegenlassen der Schnitte in der Farbflüssigkeit die Färbung kräftiger hervortreten lässt und sehr haltbar macht.

Bei GRAM'scher Methode entfärben sich die Bacillen.

Die Färbung gelingt nach FRIEDLÄNDER auch bei Anwendung des bei den Pneumoniekokken angegebenen Tinctionsverfahrens.

o) Actinomykose.

1. Vorschrift nach WEIGERT (Virch. Archiv 1881. Bd. 84. S. 285):

Man bringt die Schnitte aus Wasser in die von WEDEL (Virch. Arch. 1878. Bd. 74. S. 143) empfohlene Orseille-Lösung (in ein Gemenge von 20 cbcm absol. Akohol, 5 cbcm concentr. Essigsäure von 1,070 spec. Gew. und 40 cbcm destill. Wasser wird soviel von flüssigem, sogenanntem französischem Orseilleextract gegossen, dass eine saturirte, dunkelrothe Flüssigkeit entsteht, welche nach mehrmaligem Filtriren rubinroth wird). Daselbst lässt man sie etwa 1 Stunde liegen, spült sie oberflächlich mit absolutem Alkohol ab und bringt sie (ca. 5 Minuten) in die gewöhnliche 2 prozentige Gentianaviolettlösung. Dann starkes Auswaschen in Alkohol. Nelkenöl. Balsam.

Es zeigen nach WEIGERT die Gewebskerne eine blauviolette Farbe, die innere Zone der Actinomycesdrusen hat einen verwaschen blauen Farbenton angenommen, und die Pilzstrahlen sind schön rubinroth gefärbt. Die Präparation muss sorgfältig geschehen, es darf nicht zu lange in Alkohol ausgewaschen werden, dass nicht die rothe Farbe auszieht, die Orseillelösung muss möglichst frisch zubereitet sein.

2. Gleichfalls eine sehr intensive und haltbare Färbung, hauptsächlich der Actinomyceskeulen, erhielt ich bei folgendem Verfahren: Man bringt die Schnitte in eine ge-

Digitized by Google

sättigte, wässerige Diamantfuchsinlösung, lässt sie daselbst 5—15 Minuten liegen, bringt sie dann auf einige Augenblicke in destill. Wasser, hernach 4—5 Minuten in absoluten Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Die Methode lässt sich noch weiter in der Weise modificiren, dass man die Schnitte stundenlang in die Farblösung bringt und hernach ½—2 Stunden in Alkohol auswäscht.

Kerne und Actinomycesstrahlen färben sich intensiv roth, die inneren Partien der Actinomycesdrusen etwas blasser.

Sollten die Actinomycesdrusen verkalkt sein, so ist es bisweilen wünschenswerth, der Färbung eine Entkalkung z. B. in 2—3 prozentiger Salpetersäure vorangehen zu lassen.

p) *Schimmelpilze* (Mycelfäden eventuell auch Sporen):

Färbung nach Methode 4, sowie (nach WEIGERT) mit der bei Actinomykose angegebenen Orseillebehandlung.

Auch bei anderen in diese Kategorie gehörigen Pilzformen ist dieses Färbeverfahren zu versuchen. Bisweilen gelingt es auch durch die bei Actinomykose (2) weiter angegebene Fuchsin-Tinction, sowie durch Einlegen in 2 prozentige Bismarckbraunlösung (s. Kernfärbung) und Auswaschen in Alkohol, den Farbeffect hervorzurufen.

5. Die Sporenfärbung.

Um dieselbe in geeigneter Weise zu bewerkstelligen, erleidet das bisher beschriebene Färbeverfahren eine Abänderung, die sich im Wesentlichen darauf gründet, den Zellkörper, resp. die Umhüllung der Sporen, von der wir annehmen müssen, dass sie viel resistenter ist, wie die der übrigen Vegetationsformen der Mikroorganismen, in einen Zustand überzuführen, der das Eindringen von Färbeflüssigkeiten gestattet. Es kann dies auf verschiedene Weise erreicht werden, nach NEISSER und BIENSTOCK durch Erwärmen einer Anilinölwasserfuchsinlösung. BUCHNER erhitzte die Sporen von Bacillus subtilis enthaltenden Deckglastrockenpräparaten auf 210° C. im Trockenschranke ½—1½ Stunden lang oder bei 120° C. 1 Stunde hindurch im Dampfkessel. Denselben Effect erreichte er durch Betupfen des Präparates mit concentrirter englischer Schwefelsäure und nachheriges, 15 Secunden langes Auswaschen mit destillirtem Wasser oder durch Einwirkenlassen von concentrirter Kalilauge. Die Sporen nahmen bei nachheriger Tinction mit Methylenblau allein noch die Farbe an.

HUEPPE (Methoden der Bacterienforschung 1885. Seite 58 u. 59) giebt folgende Vorschrift: Man zieht die Sporenmaterial aufgetrocknet enthaltenden Deckgläschen 7—10 Mal durch die Spiritusflamme. Dasselbe erreicht man durch ein ¼—½ Stunde lang fortgesetztes Erwärmen derselben bei 180° resp. 200° C. im Trockenschranke. Es verlieren dabei Kerne und Protoplasma die Tinctionsfähigkeit, während bei den Sporen dieselbe erhalten bleibt. Letztere färben sich bei weiterer Behandlung mit wässerigen Lösungen der verschiedenen kernfärbenden Anilinfarbstoffe.

Zweckmässig ist es in manchen Fällen, Doppelfärbungen anzuwenden. Man tingirt dann die dreimal durch die Flamme gezogenen Präparate mit der stark alkalischen Methylenblaulösung (30 cbcm concentr. alkohol. Lösung von Methylenblau, 100 cbcm Kalilauge — 1 : 10 000), indem man sie ohne Erwärmung 12—24 Stunden mit den Präparaten in Berührung bringt und färbt mit Vesuvin in der gewöhnlichen Weise nach. Ein anderer Weg, um zum Ziele zu gelangen, welchen ich auf Grund eigener Erfahrung noch weiter empfehlen kann, ist der, die für Tuberkelbacillen gebräuchliche (siehe oben) Anilinölwasserfuchsinlösung in Anwendung zu ziehen, die Objecte 12—24 Stunden daselbst liegen zu lassen, hernach ¼—½ Stunde die Flüssigkeit auf einer Temperatur von 40° C. zu erhalten und dann abwechselnd in Alkohol und Salpetersäure (10 : 100) auszuwaschen, darauf in erneutem Alkohol abzuspülen und mit Methylenblau nachzufärben.

Es verdienen diese Methoden künftighin auch für Schnittpräparate, vielleicht noch in dieser oder jener Weise modificirt, angewendet zu werden, immer unter Berücksichtigung der beiden Gesichtspunkte: Umänderung der Sporen in einen tinctionsfähigen Zustand durch Zuhilfenahme höherer Temperaturgrade

Digitized by Google

und stärkerer chemischer Agentien, und Verwendung concentrirterer Lösungen und der Erwärmung beim Tinctionsverfahren.

III. Färbungen des Protoplasma und bestimmter kernloser Substanzen.

Wir benützen die manchen Farbstoffen zukommende Fähigkeit, auf den Zellkörper entweder überhaupt keine oder wenigstens keine ausschliesslich elective Wirkung zu äussern. Es soll dadurch vorwiegend das Zellprotoplasma, unter Umständen auch sein Verhältniss zum Zellkern, sowie die Gestalt der Zelle selbst deutlich zur Anschauung gebracht werden. Die Methode findet weiter Verwendung, wenn es gilt, das fibrilläre Bindegewebe, Fibrin, käsige Producte — Tuberkulose, Syphilis, Infarcte u. s. w. — schärfer hervortreten zu lassen.

1. Als erste Stoffe führe ich an das Beale'sche Carmin, sowie das carminsaure Ammoniak nach Hartig.

Vorschrift. (Nach Fol, Histologie, Seite 189.)

Die Schnitte aus destillirtem Wasser in die Farbstofflösung gebracht müssen minuten- bis stundenlang daselbst verweilen. Wann der richtige Zeitpunkt der Färbung eingetreten, muss mit Zuhilfenahme des Mikroskopes constatirt werden. Das Auswaschen der in carminsaurem Ammoniak befindlichen Schnitte geschieht circa 10 Minuten lang mit schwach ammoniakalischem Wasser, das der in Beale'schem Carmin liegenden mit destillirtem Wasser oder zuvor einige Secunden in einem Gemisch von 1 Theil concentrirter chemisch reiner Salzsäure, 70 Theilen Alk. rectificatiss., 30 Th. aqu. dest. Hernach bei ersterer Farbflüssigkeit gleichfalls Abspülen in destillirtem Wasser; bei beiden Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Glycerin zieht die Farbe aus Beale'schem Carmin allmählich aus. — Das Zellprotoplasma, Bindesubstanzen, kernlose pathologische Producte nehmen eine diffus rothe Farbe an.

Bisweilen treten ausser dem Protoplasma auch noch die Kerne mehr oder minder stark gefärbt hervor, um so schärfer, je neutraler die Farbstofflösung ist. Die Färbeflüssigkeit ist leicht zersetzlich!

2. Ein weiteres, sehr geeignetes Färbemittel, der Reihe der saueren Anilinfarbstoffe angehörend, ist das Eosin. Dasselbe wird in wässerigen, gewöhnlich von 1—10 % wechselnden Lösungen verwendet, welche der betreffenden — wässerigen oder alkoholischen — Flüssigkeit, in der die Schnitte tingirt werden sollen, zuvor tropfenweise zugesetzt werden. Das Auswaschen geschieht in Alkohol. Derselbe zieht den Farbstoff im Anfang rascher, später langsamer aus. Die Zeit des Auswaschens beträgt nicht mehr wie einige Minuten, gewöhnlich nur Bruchtheile einer solchen und muss in dem jedesmaligen Falle genauer ausprobirt werden. Darauf Abspülen in reinem, absolutem Alkohol. Nelkenöl, Canadabalsam. Als erprobt habe ich folgende Vorschriften gefunden:

a) Von einer 1prozentigen wässerigen Eosinlösung bringt man 10 Tropfen in ein mittelgrosses mit absolutem Alkohol gefülltes Uhrschälchen und lässt die Schnitte darin 1—1½ Minuten liegen. Darauf werden sie rasch in absolutem Alkohol abgespült, in frischen Alkohol gebracht und alsbald in Nelkenöl und Canadabalsam eingelegt.

b) Man nimmt eine 2prozentige wässrige Eosinlösung und verdünnt dieselbe mit dem 20fachen destillirten Wassers, lässt die Schnitte ½ Minute darin, spült sie einen Augenblick in Wasser ab, wäscht sie kurz in Alkohol aus. Nelkenöl, Balsam. Sollte das Nelkenöl weiteren Farbstoff ausziehen, so erfolgt nochmaliges, rasches Abspülen in Alkohol

Die obengenannten Gewebsbestandtheile nehmen eine gleichmässig rothe Farbe an; auch rothe Blutkörperchen lassen sich damit tingiren.

Einigemale schon habe ich beobachtet, dass in Eosindauerpräparaten, welche in dieser Weise gefärbt waren, mit der Zeit auch deutliche und scharfe Tinction des Kernes bei Erhalt oder leichtem Abblassen der Protoplasmafärbung sich einstellte und dauernd auf diese beschränkt blieb.

Digitized by Google

3. In dieselbe Kategorie, wie das Eosin gehört die Pikrinsäure. Dieselbe färbt in wässriger oder alkoholischer Lösung glatte und quergestreifte Muskelfasern, Hornsubstanz, Bindegewebe, Fibrin diffus gelb.

Um genannten Färbeeffect hervorzurufen, benützen wir dünnere — 1—2prozentige — oder stärkere — 5—10prozentige — Lösungen. In ersteren lässt man gewöhnlich die Schnitte 15 Minuten und länger, in letzteren nur 2—5 Minuten. Das Auswaschen geschieht bei alkoholischer Farbstofflösung in Alkohol, bei wässriger in destillirtem Wasser. Alsbaldiges Einbringen in Nelkenöl und definitive Conservirung in Balsam sind nöthig, da die Säure durch Wasser, Alkohol und auch Glycerin wieder ausgezogen wird. Ueberfärbung ist aus letzterem Grunde anzurathen.

4. Nigrosin (Anilinschwarz) färbt besonders Axencylinder, Ganglienzellen und Neuroglia diffus dunkelbau (bisweilen erscheinen auch die Kerne schwach blau gefärbt); es ist deshalb für das Centralnervensystem gut zu verwenden, besonders wenn es darauf ankömmt, Degenerativzustände deutlich zur Anschauung zu bringen. Das Arbeiten mit diesem Stoffe ist ein sehr bequemes und rasch zum Ziele führendes, weshalb diese Art von Färbung in mancher Beziehung derjenigen mit Carmin vorzuziehen ist. Es existirt im Handel ein in Wasser und ein in Alkohol lösliches Präparat.

Vorschrift.

Die Schnitte werden, je nachdem es sich um das eine oder andere dieser Präparate handelt, 2—3 Minuten lang in eine concentrirte wässrige oder alkoholische Lösung desselben gebracht, darauf einige Minuten bis 1/4 Stunde lang abwechselnd in reichlichem, einige Male zu erneuerndem destillirtem Wasser und Alkohol ausgewaschen, dann in Nelkenöl übertragen und in Balsam conservirt.

5. Chinolinblau (Cyanin, basische Anilinfarbe), zur Färbung von Fettsubstanzen zweckmässig.

Ranvier bedient sich, nach Fol's Angaben, einer Auflösung desselben in „schwachem, 36prozentigem Alkohol und legt die stark gefärbten Präparate in Glycerin ein." Es resultirt daraus anfänglich eine violettbläuliche Kernfärbung und eine blaugraue Tinction der Nerven. Indem nach und nach die Farbe wieder aus den Kernen schwindet, behält das Protoplasma den Farbenton bei, während das Fett selbst dunkelblau gefärbt erscheint.

Ausser diesen werden noch empfohlen: Purpurin, Orseille, Jodgrün u. A., worauf hier nicht näher eingegangen werden kann.

Werden diese Färbungen in Combination mit Kernfärbungen angewendet, so entstehen dadurch

IV. Die Doppelfärbungen.

Dieselben sind sowohl für Kerne, wie für Bacterien zu verwerthen. Für die Technik ist zu berücksichtigen, dass entweder die Kernfärbung voranzugehen und dieser erst die diffuse Tinction zu folgen hat, oder umgekehrt. Ich empfehle ersteres, das gebräuchlichere Verfahren. Besonders wichtig dabei ist: Herstellung einer möglichst isolirten, intensiven und dauerhaften Kern- resp. Bacterienfärbung.

Betreffs der specielleren Ausführung füge ich noch Folgendes kurz an: Nachdem an Kernen und Bacterien genau nach den oben angegebenen Vorschriften die Färbung vollzogen, werden die Schnitte in Lösungen von Carmin, Eosin oder Pikrinsäure gebracht und nach den unter III (Protoplasmafärbungen) aufgestellten Prinzipien weiter behandelt. Ehe die Schnitte in die zweite Farbstofflösung gebracht werden, müssen sie zuvor gut in Alkohol abgespült sein. Selbstverständlich ist, dass dabei nur Contrastfarben zu verwenden sind, z. B. Gentianaviolett-Eosin oder Carmin (für Bacterien zu empfehlen), Hämatoxylin-Eosin (besonders schön für Kerne), Hämatoxylin-Pikrinsäure, Bismarckbraun-Eosin, Carmin-Pikrinsäure u. s. w. Ein einfaches Verfahren besteht, speciell für Bacterien, darin, dass man sich eine gesättigte alkoholische Lösung von Eosin herstellt, dieselbe

Digitized by Google

tropfenweise in das aufhellende ätherische Oel überträgt (Nelkenöl, Origanumöl u. s. w.), bis dasselbe eine gleichmässig kirschrothe Farbe angenommen hat. Die Schnitte werden aus Alkohol direct in dieses Fluidum gebracht und bleiben daselbst — gewöhnlich nicht über 10 Minuten — liegen, bis sie eine gleichmässig rothe Farbe angenommen haben. Dem Belieben des Einzelnen bleibt es überlassen, die Farbflüssigkeit dünner oder stärker zu machen und die Schnitte dem entsprechend längere oder kürzere Zeit darin liegen zu lassen. Ich habe auf diese Weise sehr schöne und haltbare Präparate von Milzbrandbacillen, Pyaemiakokken u. s. w. erhalten, welche eine distincte blaue Farbe darboten, während das übrige Gewebe gleichmässig roth gefärbt war. Diese Methode kann ich zu weiterer Berücksichtigung nur empfehlen.

Für bacteriologische Zwecke sind Verbindungen von Kernfärbungen mit Tinctionen der betreffenden Mikroorganismen angezeigt, hauptsächlich in solchen Fällen, in denen eine genauere Kenntniss ihrer Lagerungsverhältnisse im Gewebe selbst erforderlich ist. Es können dabei die verschiedensten der oben angegebenen Farbstoffe verwendet werden nach den dort näher bezeichneten Methoden.

V. Darstellung der Kerntheilungsfiguren.

Neuere Untersuchungen, ich nenne nur die Namen Bütschli, Strassburger und vor allem Flemming, auf normalem, Eberth und Arnold auf pathologischem Gebiete, haben ergeben, dass die Theilung der Kerne nicht in der einfachen Weise, wie man früher annahm, sich vollzieht, sondern dass der dabei stattfindende Vorgang häufig ein viel complicirterer ist. Dadurch eröffnet sich für das Wesen mancher pathologischer Processe eine ganz andere Perspective, und es dürfte dieser Gegenstand deshalb zur Entscheidung mancher noch schwebenden Frage in unserem Fache nicht ohne Bedeutung sein. Ich kann es darum nicht unterlassen, an diesem Orte einige kurze Angaben über das bei hierauf bezüglichen Untersuchungen einzuschlagende Verfahren zu machen.

Soll dasselbe allen Anforderungen, welche daran zu stellen sind, auch vollkommen genügen, so ist einmal entsprechende Härtung der zu untersuchenden Objecte, sowie subtile Ausführung der Färbung erforderlich. Es lassen sich zwar schon an Alkoholpräparaten, noch besser an solchen, die in chromsauren Salzen gehärtet sind, bei sauberer Ausführung der gewöhnlichen Kern- (noch mehr der Bacterien-) Tinction — besonders Gram'sche Methode — Kerntheilungsfiguren nachweisen; dieselben sind jedoch unter diesen Umständen gewöhnlich nicht in allen Details so scharf ausgeprägt, dass sie den Vorgang in richtiger und naturgetreuer Form wiedergeben. Letzteres wird dagegen in erwünschter Weise erreicht, wenn wir die üblichen Methoden noch weiteren Modificationen unterwerfen. Verschiedene Vorschriften, welche diesen Forderungen in mehr oder minder vollkommener Weise Rechnung tragen, sind dazu angegeben worden. Am zweckentsprechendsten darunter ist, meinen eigenen Erfahrungen nach, zweifellos die von Flemming (Mittheilungen zur Färbetechnik I, ein neues Verfahren etc., Zeitschrift für wissensch. Mikroskop. 1884. B. I. S. 349 ff.).

Vorschrift (nach Flemming).

Frisch abgeschnittene Gewebstücke, möglichst nicht über 0,5 cm dick, kommen in ein Gemisch von: Chromsäure von 1 p. c. 15 Maasstheile.
Osmiumsäure von 2 p. c. 4 Maasstheile.
Eisessig 1 Maasstheil oder weniger.

Diese Flüssigkeit muss dem Volumen nach 4mal grösser sein als das eingelegte Stück. Die Stücke bleiben daselbst zum Mindesten einen Tag, besser 2—3 Tage, längeres Liegenlassen schadet nichts; sie können dabei Licht und Sonne ausgesetzt sein. Daraufhin werden die Stücke eine Stunde und länger in schwachdurchströmtem gewöhnlichem Wasser ausgewaschen und einige bis mehrere Stunden in Alkohol absolutus nachgehärtet

Digitized by Google

und entweder direct unter Alkohol geschnitten oder in toto gefärbt und eingeschmolzen. Nach dem Schneiden Abspülen in reinem Wasser und 12 bis 24 Stunden lange Färbung in einer gesättigten und mit der Hälfte destillirten Wassers verdünnten Lösung von Safranin oder Gentianaviolett (ausser diesen dürften auch noch Dahlia, Bismarckbraun u. s. w. Verwendung finden können). Aus der Färbeflüssigkeit werden die Schnitte vorsichtig in angesäuerten Alkohol (0,5prozentige chem. reine Salzsäure) übertragen und in derselben mehrere Minuten lang unter häufigem Umschütteln der Flüssigkeit belassen, bis keine Farbe mehr auszieht. Darauf kommen sie kurz in absoluten Alkohol, Nelkenöl bis zur vollständigen Aufhellung und zur Conservirung in Damarlack oder Canadabalsam. Damarlack ist in solchen Fällen zu verwenden, wo neben der Kernfärbung noch möglichst viel von der gewebigen Structur zur Anschauung gebracht werden soll, Canadabalsam dagegen dann, wenn möglichst starke Aufhellung erwünscht ist.

Ausser dieser verdient noch Erwähnung die von ALTMANN (Archiv für Anatomie und Entwickelungsgeschichte 1881 S. 219) empfohlene Salpetersäure (3 %) — Hämatoxylinbehandlung. Ich selbst habe darüber keine eigene Erfahruug, halte jedoch wegen der durch sie zugleich erzeugten Entkalkung ihre Anwendung besonders dann für zweckmässig, wenn es gilt, an Knochengewebe oder verkalkten Partien die Untersuchung stattfinden zu lassen. Allerdings müssen, weil dabei keine gute Härtung eintritt, solche Präparate zuvor der Einbettung (Cellöidin, Paraffin) unterworfen werden, was FLEMMING für einen Nachtheil hält.

VI. Metallsalze.

Ausser den bisher behandelten Farbstoffen sind wir im Besitze einer Zahl von chemischen Agentien, deren entsprechende Anwendung nicht minder scharf und deutlich nachweisbare Farbenreactionen zur Folge hat. Es sind dies gewisse Metallsalze, worunter ich anführe: Gold- und Silberverbindungen, das Palladiumchlorür (SCHULZE), sowie das molybdänsaure Ammonium (MERKEL, KRAUSE). Unter diesen sind es die zwei ersteren, welche für uns specielle Bedeutung haben. Ihnen stelle ich noch an die Seite die Osmiumsäure, welche in ihrer Wirkungsweise letzteren gleichkommt, und deshalb gleichzeitig damit abgehandelt werden soll. Der Vorgang, um den es sich hierbei handelt, beruht auf der bestimmten Gewebselementen zukommenden Fähigkeit, derartige Verbindungen zu reduciren und das Metall in diffuser oder feinkörniger Form in ihrem Innern abzulagern. Sehr wichtig dabei ist, dass die Untersuchung möglichst am frischen, noch nicht der Härtung unterworfenen Objecte vorgenommen wird. Die Ausführung der Färbung am gehärteten Präparate gelingt zwar auch unter gewissen Umständen (Goldmethode), ist aber häufig umständlicher und liefert nicht immer so instructive und zuverlässige Bilder, wie die am frischen. Besonders für die Präparation noch zu berücksichtigen ist, dass die Wirkung dieser Agentien nur an den oberflächlichen Gewebsschichten zur Geltung kommt, da die aus der Reaction resultirenden chemischen Veränderungen ein weiteres Eindringen der betreffenden Flüssigkeiten in die Tiefe verhindern.

1. Die Goldmethode (von COHNHEIM zuerst in der Technik eingeführt).

Sie ist einmal zu verwenden für das Nervensystem. Bei ihrer Anwendung färben sich die Axencylinder der Nervenfasern, zum Theil auch die Nervenendigungen dunkelviolett bis dunkelschwarzroth. Nächstdem zeigen dieselbe Farbreaction die Hornhautkörperchen, sowie zuweilen Zellprotoplasma in frischem Zustande. So schön die wohlgelungene Färbung sich ausnimmt, so fraglich ist bisweilen der Erfolg. Häufig entstehen dabei Trug- und Zerrbilder. Subtiles Arbeiten und vorsichtige Verwerthung und Deutung der Re-

Digitized by Google

sultate ist hier doppelt nöthig. Betreffs Ausführung der Methode existiren die verschiedensten Vorschriften, mit mannigfacher Abweichung nach dieser und jener Richtung hin. Die Einen legen die Objecte in einfach wässrige reine Goldchlorid- oder Goldchloridsalzlösung (von 0,1 %—1,0 % variirend), Andere in die zugleich angesäuerte. Das Auswaschen wird theils in reinem destillirtem, theils in angesäuertem Wasser vorgenommen u. s. w. Ich empfehle folgende

Vorschrift.

a) Für die Cornea: Die Cornea wird in möglichst frischem Zustande, nachdem das Oberflächenepithel entfernt, in eine ½prozentige wässrige Lösung von Auronatrium chloratum gelegt und zwar so lange — ca. 1½ Stunden —, bis sie eine schwarzviolette Farbe angenommen hat, darauf 48 Stunden in reducirender Flüssigkeit ausgewaschen. Zusammensetzung derselben: Ameisensäure, Amylalkohol aa 1,0 gr. aqu. dest. 100,0 gr, darauf in dest. Wasser abgespült und in Glycerin untersucht. An der Kaninchencornea lassen sich Mikrotomflächenschnitte ausführen.

b) (Auch für Nervenfasern in Anwendung zu bringen; nach der alten Cohnheim'schen Methode.) Dünne Schnitte oder Stückchen kommen in eine ½prozentige Goldchloridlösung, die mit einigen Tropfen Essigsäure (1:200) angesäuert ist. Nachdem sie daselbst 1—2 Stunden gelegen, werden sie in eine Essigsäurelösung von derselben Concentration gebracht, wo sie 24—48 Stunden liegen bleiben und dann mit Nelkenöl, Canadabalsam weiter behandelt.

Die Vorschrift von Ranvier für die Cornea: Unmittelbar nachdem die Cornea vom Auge abgetragen ist, wird sie auf 5 Minuten in frisch ausgepressten und durch Flanell filtrirten Citronensaft gebracht, darauf in destillirtem Wasser abgewaschen, dann 15 bis 20 Minuten lang in eine Kaligoldchloridlösung eingelegt, und wieder in destillirtem Wasser ausgewaschen. Darnach wird die Cornea in verdünnte Ameisensäure (1:3 aqu. dest.) übertragen oder in Wasser, dass mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert ist, wo sie, gegen Licht geschützt, 12—24 Stunden liegen bleibt. Endlich Abwaschen in destillirtem Wasser und Untersuchung in Glycerin.

Was die Anstellung der Färbung am gehärteten Präparate betrifft, so ist zu bemerken, dass dieselbe leichter zu Stande kommt an solchen Theilen, die zuvor nicht zu lange Zeit in Alkohol oder in den gewöhnlichen Lösungen von doppelchromsaurem Kali gelegen. Es existiren auch hierüber verschiedene Vorschriften. Unter anderen von Flechsig, Frisch, Leber u. s. w.

Ich erwähne nur kurz: a) Die von Frisch: Auswaschen der Schnitte in reichlichem Wasser, 24 Stunden lang Einlegen in 0,6prozentige Kochsalzlösung, darauf Weiterbehandlung auf 5—10 Minuten mit 10prozentiger Ameisensäure, Einbringen in 1prozentige Goldchloridlösung für einige Stunden, wiederum Auswaschen in Wasser und ca. 24 Stunden lang in 10prozentige Ameisensäure legen u. s. w. — Nervenfärbung. b) Rückenmarksquerschnittfärbung nach Flechsig: Verhärtung in chromsaurem Ammoniak, Eintragen in destillirtes Wasser, darauf Einlegen in ½prozentige Goldchloridlösung gleichfalls einige Stunden lang, Auswaschen in Wasser und zuletzt Einlegen in eine 10prozentige Lösung von Natron causticum.

Es verdienen diese Methoden für unsere Zwecke, besonders bei Untersuchung über das Vorkommen von Nerven unter verschiedenen pathologischen Processen noch weiter geprüft und in Anwendung gezogen zu werden.

2. Imprägnation mit Silbersalzen (von Recklinghausen zuerst angegeben).

Dieselbe kommt speciell für seröse Häute, sowie für Blut- und Lymphgefässendothelien in Betracht, wenn es gilt, die Zellgrenzen resp. die Kittsubstanz der Zellen darzustellen oder Lücken im Gewebe zu demonstriren. Je nachdem dem einen oder anderen Postulate Genüge geleistet werden soll, ist ihre Anwendung eine verschiedene. Wir ziehen hauptsächlich die Darstellung der Zellgrenzen in den Bereich unserer Untersuchung. Man kann dabei verfahren nach folgender

Digitized by Google

a) *Vorschrift.*

Vorbedingung: möglichst frischer Zustand der Gewebstheile. Dieselben werden unter Anwendung von Glasinstrumenten sorgfältigst ausgebreitet in eine salpetersaure Silberlösung gebracht (durchschnittlich 0,5—1,0 gr auf 100,0 gr aqu. dest.). Darin bleiben sie gewöhnlich 1 bis ca. 15 Minuten liegen, bis sie eine mattweissliche Färbung darbieten. Darauf werden sie entweder mit reinem destillirtem Wasser oder mit 2prozentiger Essigsäurelösung Minuten lang abgespült unter Zutritt des hellen Tageslichtes, bis sie eine gleichmässig mattbraune oder braune Farbe angenommen haben. Dann wiederholtes Auswaschen in destillirtem Wasser; Glycerin, Glycerinleim u. s. w. Zur Vermeidung des Nachdunkelns des Präparates wird eine 10prozentige Lösung von unterschwefligsaurem Natron empfohlen, die natürlich durch reichliches Auswaschen mit destillirtem Wasser wieder zu entfernen ist. Häufig entstehen bei dieser Präparation trotz aller Vorsicht Silberniederschläge der verschiedensten Gestalt, die vollkommen bedeutungslos sind.

b) *Vorschrift*
zur Sichtbarmachung der Gewebslücken (His).

Man lasse die zu untersuchenden Theile im Dunkeln etwas länger wie bei Vorschrift a (bestimmte Zeitwerthe lassen sich nicht angeben, die Methode muss in dem betreffenden Falle ausprobirt werden) in der salpetersauren Silberlösung sub a) angegebener Concentration und bringe sie hernach sofort unter stetem Hin- und Herbewegen in eine 2½—5prozentige wässrige Chlornatrium- oder Zinnchloridlösung, übertrage sie darauf in destillirtes Wasser und setze sie zugleich dem Lichte aus. Ist die Reaction in idealer Weise eingetreten, so finden sich nunmehr die Gewebslücken mit dem reducirten Silbersalz erfüllt. Zur Darstellung der Lymphgänge in Cornea, Muskeln sehr zu empfehlen.

Mit beiden Methoden lässt sich zweckmässig eine Nachfärbung, z. B. mit Carminfarben verbinden. Dazu aber zuvoriges, gutes Auswaschen nöthig.

3. Osmiumsäure (von M. Schultze zuerst angewendet).

Sehr geeignet und gegenwärtig allgemein im Gebrauch zur besseren Sichtbarmachung Fett in jeder Form enthaltender Substanzen: normales Fettgewebe, markhaltige Nervenfasern, aber auch fettige Degeneration. Das Fett nimmt dabei eine intensiv schwarze Farbe an. Immerhin ist, gerade in differentialdiagnostischer Beziehung bei pathologischen Processen in Rechnung zu ziehen, dass mitunter frisches Zellprotoplasma oder degenerative Zustände z. B. die kernige oder albuminöse Trübung ähnliche Farbreaction annehmen. Auch die im Körper so weit verbreitet vorkommenden Plasmazellen bieten gewöhnlich dieses Verhalten dar. Nicht minder gilt dies von Mikroorganismen z. B. Milzbrandbacillen, verschiedenen Kokkenarten, sowie von rothen Blutkörperchen. Dieselben erhalten, der Einwirkung von Osmiumsäuredämpfen ausgesetzt, eine allmählich zunehmende, dunkel- bis schwarzbraune Farbe. Unseren Zwecken entsprechen 0,5 — 2prozentige Lösungen der Säure in destillirtem Wasser. Noch besonders zu betonen ist, dass die Herstellung der Säurelösung unter den einen Ausschluss jedweder Verunreinigung nöthig machenden Kautelen zu geschehen hat. Die Säure ist an dunklem Orte unter Wasserabschluss aufzubewahren. Instrumente, Schalen, sowie die übrigen Reagentien sind möglichst frei von organischen Bestandtheilen zu halten. Spatel und Nadeln müssen aus Glas gefertigt sein. Das destillirte Wasser soll zuvor frisch ausgekocht sein.

Vorschrift.

a) Für Schnitte: Man bringt dieselben 12—24 Stunden in eine ½prozentige Osmiumsäurelösung und wäscht hernach Minuten bis Stunden in mehrmals zu wechselndem, destillirtem Wasser aus. Statt des letzteren kann auch 0,6prozentige Kochsalzlösung oder destillirtes Wasser, das mit einigen Tropfen einer 5prozentigen Essigsäure angesäuert ist, verwendet werden. Vor der Conservirung, die in Glycerin oder Glycerinleim stattfindet, ist nochmaliges, reichliches Auswaschen in destillirtem Wasser nöthig. Es lassen sich mit der Färbung auch Nachfärbungen z. B. mit Bismarckbraun und Carmin verbinden. Vorheriges, gründliches Auswässern ist hier doppelt nöthig.

Digitized by Google

b) Stückpräparate, z. B. Nervenfasern, Geschwulstpartikel, müssen in möglichst kleiner Form in die Lösung gebracht werden. Zweckmässig ist es, erstere an einem Glasstäbchen mittelst Asbestfadens zu fixiren. Zur Erzeugung der Färbung sind etwas stärker concentrirte Lösungen, durchschnittlich von 1,0 Prozent nöthig. Die beiden Methoden können, was Stärke der Lösung und Auswaschen betrifft, noch weiter nach dieser und jener Richtung hin modificirt werden.

Am besten tritt der Farbeffect ein an frischen Objecten. Gehärtete Präparate nehmen die Farbe gar nicht oder lange nicht so schön an, wie frische und dürfen keinenfalls der Härtung in Alkohol unterworfen gewesen sein.

VII. Weitere chemische Stoffe.

1. Schwefelammonium.

Dasselbe dient nach QUINCKE's Untersuchungen (Deutsch. Arch. f. klin. Medic. 1880. B. 27. S. 214 und 215) als Reaction auf Eisen resp. bestimmte Verbindungen desselben — Siderosis — die bei gewissen Krankheiten, bei denen es zu einem vermehrten Zerfall von rothen Blutkörperchen kommt — schwere anämische Zustände, z. B. perniciöse Anämie, Intoxicationen, bisweilen Infectionskrankheiten u. s. w. — in körniger Form im Innern zelliger Elemente sich ablagert. Unter den Organen, welche hierbei in erster Linie in Betracht kommen, sind zu nennen vor allem die Leber, nächstdem Knochenmark, Milz und Nieren. Es kennzeichnet sich dies bisweilen schon makroskopisch in der Leber durch eine eigenthümlich braunrothe Färbung des Gewebes. Die Reaction ist aber vorkommenden Falles auch an all den übrigen Körperorganen vorzunehmen. Dieselbe ist einfach auszuführen:

Die am frischen oder in Alkohol gehärteten Präparate gefertigten Schnitte werden in frisch zubereitetes Schwefelammonium gelegt, bis sie eine dunkel- bis schwarzgrüne Farbe angenommen haben, was gewöhnlich nach 5—20 Minuten erfolgt ist, darauf rasch in Wasser abgespült und in schwach schwefelammoniumhaltigem Glycerin untersucht. Die Conservirung geschieht durch Umziehen des Präparates mit einem Lackrahmen.

Das Eisen tritt dann in Gestalt feinster schwarzer, bisweilen auch schwarzgrüner Körnchen, welche diffus durch das Zellprotoplasma vertheilt sind, hervor. Die Färbung erhält sich bei dieser Präparationsmethode wochenlang unverändert.

Gute dauerhafte Präparate habe ich ferner dadurch erhalten, dass ich die in Wasser abgespülten Schnitte in Alkohol übertragen, Nelkenöl aufgehellt und in Canadabalsam conservirt habe.

QUINCKE hatte früher zum Nachweis des Eisens Ferrocyankalium und Salzsäure verwendet, die Methode aber wieder aufgegeben, weil diese Stoffe das Eiweiss stark coaguliren und leicht in das umgebende Gewebe diffundiren, was zu unliebsamen Irrthümern Veranlassung geben kann.

2. Jod.

Dasselbe beansprucht eine besondere Bedeutung. Wir verwenden es aufgelöst in wässriger Jodkaliumlösung als sogenannte LUGOL'sche Lösung, und zwar in folgender Zusammensetzung: Jodkal. 1,0, Aqu. dest. 20,0, Jod. metall. so viel als sich löst. Dieselbe wird entweder in dieser Concentration oder in beliebiger Verdünnung mit destillirtem Wasser in Gebrauch gezogen. Die Reaction dient verschiedenen Zwecken, einmal um Gewebsbestandtheile jeder Art unter normalen und pathologischen Verhältnissen (zellige Gebilde, Bindesubstanzen, colloide Massen) durch die Gelbfärbung, welche sie annehmen, deutlicher hervortreten zu lassen. Es geschieht dies einfach in der Weise, dass man, was besonders für frische Objecte sehr zu empfehlen ist, die Schnitte in LUGOL'sche Lösung und in Verbindung mit dieser auf den Objectträger bringt. Andererseits bildet sie den Hauptfactor zur Ausführung des GRAM'schen Verfahrens (siehe oben). Nächstdem aber dient sie noch besonderen, nachstehend

Digitized by Google

zur Besprechung kommenden Zwecken. Nicht ausser Acht zu lassen ist, dass das Jod ein sehr flüchtiger Körper ist und auch in den hier zu benutzenden Lösungen leicht aus den Präparaten diffundirt. In Glycerin hält es sich nur kurze Zeit, in Canadabalsam so gut wie gar nicht, da durch die zuvorige Anwendung des Alkohol das Jod ausgezogen wird. Das einzige, einige Aussicht auf Erfolg versprechende Conservirungsmittel ist reiner oder mit LUGOL'scher Lösung versetzter Gummischleim (Genaueres hierüber siehe unter Glycogen), der aber beim Einlegen subtile Handhabung erfordert wegen der häufig dabei auftretenden Schrumpfungen des Präparates, Luftblasenbildung u. s. w.

Betreffs seiner spezielleren Verwendung ist zuerst anzuführen seine Eigenschaft als Reagenz auf Cholestearin. Setzt man zu Objecten, welche Cholestearin enthalten, einige Tropfen LUGOL'scher Lösung, so nehmen dieselben alsbald einen dunkelbraunen Farbenton an, welcher bei Zusatz einiger Tropfen starker Schwefelsäure (30—40 prozentiger) allmählich ins Blaurothe, Blaugrüne und Reinblaue umschlägt. Die Reaction kann einfach auf dem Objectträger bei directer Beobachtung unter dem Mikroskop ausgeführt werden.

Noch wichtiger ist es, wenn es den Nachweis von Glycogen gilt. Aus der normalen Histologie ist schon längst bekannt, dass dieser Stoff sich in gewissen Geweben, z. B. Knorpel, Leber, vor allem aber in solchen embryonalen Charakters mit Vorliebe ablagert. Aus neueren Untersuchungen geht noch weiter hervor, dass sein Vorkommen im Organismus, besonders dem niederer Thiere (BARFURTH), viel mehr verbreitet und viel reichlicher ist, als man bisher anzunehmen geneigt war, ja selbst bei pathologischen Zuständen ist es in neuer Zeit vielfach angetroffen worden. Ich erwähne nur EHRLICH, welcher es bei Diabetes in reichlicher Menge in der Leber sowie in der Niere nachweisen konnte, MARCHAND, der demselben in Geschwülsten begegnet ist. Es findet sich in den Zellen in grösseren und kleineren Schollen aufgespeichert. Für das Gelingen der Reaction ist besonders zu beachten, dass die Anwendung des Wassers in jeglicher Form vermieden werden muss, da das Glycogen dadurch aus dem Gewebe diffundirt und alsbald weiteren Zersetzungen anheimfällt. Ausschliessliche Behandlung der Objecte mit absolutem Alkohol ist deshalb dringendes Erforderniss. Nachstehend gebe ich die Vorschrift von BARFURTH (Arch. für mikrosk. Anatom. 1885. B. 25. S. 260) wieder, welche ich bei meinen Untersuchungen am meisten erprobt gefunden habe:

Die zu untersuchenden Gewebstheile werden möglichst bald nach dem Tode unmittelbar in absoluten Alkohol gebracht und dort gehärtet, die angefertigten Schnitte werden aus Alkohol direct in eine der nachgenannten jodhaltigen Flüssigkeiten gelegt und in dieselben suspendirt auf den Objectträger übertragen, wo sie der mikroskopischen Untersuchung unterworfen werden.

Die betreffenden Lösungen, welche in Anwendung gezogen werden, zeigen folgende Zusammensetzung: 1. Jod-Jodkaliumlösung (Kal. jod. 3,0. Jod. pur. 1,0. Aqu. dest. 500,0), 2. Jod-Glycerin (letztere oder auch eine etwas stärkere Lösung zur Hälfte mit Glycerin versetzt), 3. Jod-Gummi nach EHRLICH, „eine dünne Jod-Jodkaliumlösung wird mit soviel Gummi arabicum versetzt, dass eine zähe, syrupöse Flüssigkeit entsteht". Erstere Lösung (1) wirkt am schnellsten auf Gewebe, in denen Glycogen vorhanden ist. Lösung 2 macht die Gewebe wegen der Aufhellung, die es im Gefolge hat, für feinere Untersuchungen zugänglicher. Die EHRLICH'sche Lösung eignet sich besonders gut zum Conserviren.

Die charakteristische Farbreaction ist braun und braunroth, zeigt dadurch viele Aehnlichkeit mit Amyloid, welches sich von Glycogen aber dadurch unterscheidet, dass es in Wasser und verdünnten Säuren unlöslich ist, und dass es durch Schwefelsäurezusatz die nachstehend zu schildernde Färbung annimmt, während dies bei Glycogen nicht der Fall ist.

Auch die häufig in der Prostata sowie im Centralnervensystem, besonders unter pathologischen Verhältnissen sich vorfindenden Corpora amylacea

Digitized by Google

(nicht zu verwechseln mit Amylumkörnern, wie sie zufälligerweise häufig in den oberen Theilen des Digestionstractus vorkommen und mit Jod sich blau färben) erhalten mit LUGOL'scher Lösung zusammengebracht eine scharf ausgeprägte braunrothe Färbung. Die Ausführung der Färbemethode ist dieselbe, wie bei der nachfolgend zu besprechenden

Amyloidreaction. Für diese ist die Anwendung der LUGOL'schen Lösung besonders charakteristisch und hat seinerzeit zuerst Veranlassung zu eingehenderen Studien (VIRCHOW, E. WAGNER) über die amyloide Degeneration gegeben. Folgende Vorschriften habe ich dabei am zweckmässigsten gefunden:

Die Schnitte, sowohl frische wie solche, welche von gehärteten Objecten jeder Art herstammen, werden aus Wasser in die Farbstofflösung übertragen. Gehärtete Schnitte erfordern, damit die Farbreaction vollkommen scharf und deutlich sich vollzieht, ein zuvoriges längeres — 5—10 Minuten — Verweilen im Wasser. Als Farbflüssigkeit dient LUGOL'sche Lösung der bereits angegebenen Zusammensetzung (Kal. jodat. 1,0. Aqu. dest. 20,0. Jod. metall. so viel als sich löst), welche mit dem 3fachen destillirten Wassers verdünnt wird. Die Schnitte bleiben daselbst ca. 3—5 Minuten liegen, darauf werden sie mehrere Minuten in reichlichem destillirtem Wasser ausgewaschen, bis sie allen Farbstoff vollkommen verloren haben und entweder in destillirtem Wasser angesehen, um den Glanz des Amyloides deutlich zu Gesicht zu bekommen oder zur Aufhellung von Wasser in Glycerin, zur Conservirung in dieses oder in Glycerinleim gebracht. Doch geht mit der Zeit in beiden Stoffen die Färbung verloren, dasselbe gilt von Canadabalsam. Das beste Aufbewahrungsmittel ist dicker Gummischleim, hergestellt durch Auflösen von reinem Gummi arabicum in destillirtem Wasser und nachheriges Filtriren. Demselben können geringe Mengen Glycerin zugesetzt werden. Die Objecte werden mit Wasser auf den Objectträger gebracht, und nachdem dasselbe mit Fliesspapier abgezogen, vorsichtig, damit nicht zu viele Luftblasen entstehen, und vollständig mit der Gummilösung bedeckt. Letztere darf wegen der nachherigen Wasserverdunstung etwas reichlich aufgetragen werden.

Die amyloid degenerirten Partien nehmen eine mahagoni- oder nussbraune Farbe an.

Ein Uebelstand bei dieser Färbung ist der, dass dieselbe sich nicht immer in gleichmässiger Weise bei sämmtlich amyloid degenerirten Partien in ein und demselben Objecte äussert, dass z. B. in der Niere die Glomeruli bald heller, die Gefässe bald dunkler gefärbt sind, dass die Cylinder, welche bei Gentianaviolettreaction fast nie die charakteristische Färbung zeigen, gleichfalls ins Bräunliche spielende Nuancen darbieten u. s. w. Dazu kommt noch, dass das übrige Gewebe bisweilen einen schmutzig grünen Grundton erhält, der, besonders wenn die Schnitte etwas dicker sind, eine scharfe Abgrenzung des Amyloides erschwert. Aus diesem Grunde ist diese früher ausschliesslich gebräuchliche Methode durch die Gentianaviolettessigsäurereaction bedeutend in den Hintergrund gedrängt worden.

Diesem Nachtheil wird auch nicht abgeholfen durch die Modification dieses Verfahrens mit Schwefelsäure.

Die Behandlung ist dabei im Anfange dieselbe wie oben. Nachdem die gefärbten Schnitte in destillirtem Wasser abgewaschen, werden sie entweder auf dem Objectträger oder in einem Schälchen mit dünner, gewöhnlich 1- oder 2prozentiger Schwefelsäure in Berührung gebracht und zwar durchschnittlich 5 Minuten lang, darauf rasch in Wasser abgespült und in der oben angegebenen Weise weiter behandelt.

Ist der Ausschlag der Färbung ein vollkommener, so zeigen die amyloid degenerirten Theile einen blauen, häufiger noch ins Blaugrünliche, selbst Blauröthliche spielenden Farbenton, während die Umgebung eine blassgelbe Färbung darbietet. Nicht selten kommt es jedoch vor, dass statt dessen die braunrothe Farbe sich gar nicht verändert oder etwas heller oder dunkler wird, oder dass erstere Färbung an einzelnen Theilen des Amyloides, letztere an anderen Theilen desselben sich bemerkbar macht, mitunter stellt sich statt der blauen Nuance eine heller oder dunkler grüne Tingirung ein u. s. w., kurz das Farbenbild ist ein keineswegs einheitliches, gar nicht davon zu reden, dass auch das nicht amyloid degenerirte Gewebe in diffuser Weise die verschiedensten, ins Gelbe

Digitized by Google

und Grünliche spielenden Farbentöne darbieten kann. Ob der Grund hierfür in postmortalen, eventuell durch die Härtung bewirkten Veränderungen zu suchen, oder auf eine verschiedene Beschaffenheit der amyloiden Substanz zu beziehen ist, kann hier nicht weiter erörtert werden.

Vor der Reaction mit LUGOL'scher Lösung hat neuerdings den Vorrang gewonnen die mit (Methyl-) und Gentianaviolett (CORNIL; HESCHEL und JÜRGENS). Richtig ausgeführt liefert dieselbe unstreitig die schönsten und instructivsten Bilder. Wir sind dadurch in manche Detail-Fragen der amyloiden Degeneration noch weiter eingedrungen. Vorbedingung für das gute Gelingen der Farbreaction ist, dass die Schnitte aus Wasser in die Tinctionsflüssigkeit kommen, dass überhaupt Alkohol in jeder Concentration von denselben fernegehalten wird. Ich bediene mich folgender

Vorschrift.

Frische Mikrotomschnitte werden zu dem Behufe aus Kochsalzlösung in destillirtes Wasser übertragen, weit mehr gilt dies von solchen, die von gehärteten Objecten herstammen, mögen nun Alkohol oder chromsaure Salze Verwendung dazu gefunden haben. Letztere bleiben in Wasser wenigstens 5—10 Minuten liegen, damit ihre Härtungsflüssigkeit vollständig auszieht. Darauf werden sie — und zwar sowohl frische wie gehärtete Schnitte — 6—7 mal mit der Pinzette langsam durch die gewöhnliche 2prozentige Gentianaviolettlösung gezogen und dann unmittelbar in essigsaures Wasser (8—10 Tropfen concentrirte Essigsäure auf ein mittelgrosses Uhrschälchen destillirten Wassers) übertragen, wo sie 2—3 Minuten liegen bleiben und hernach in reichlichem destillirtem Wasser abgespült. Sollte in letzterem das Präparat noch eine dunkelblaue Färbung darbieten, oder noch überschüssiger Farbstoff aus demselben ausziehen, so wird es in erneute Essigsäurelösung zurückgebracht, bis es eine gleichmässig himmelblaue Farbe angenommen hat. Es lassen sich dann mit blossem Auge schon die amyloid degenerirten Stellen deutlich wahrnehmen. Man kann das Verfahren auch in der Weise abändern, dass man die Gentianaviolettlösung mit dem Doppelten destillirten Wassers verdünnt, die Schnitte dann 15—30 Secunden daselbst liegen lässt, und hernach mehrere Minuten hindurch mit essigsaurem Wasser mehrfach abspült u. s. w. Sollte die mikroskopische Untersuchung ergeben, dass die Färbung trotz der angegebenen Behandlung eine zu starke ist, so werden dem destillirten Wasser noch einige Tropfen Essigsäure mehr zugesetzt und umgekehrt.

Ist die Tinction in allen Theilen gelungen, so zeigen die amyloid degenerirten Partien, selbst in den kleinsten Theilen eine exquisit kirschrothe Farbe, während die Kerne der verschiedenen Gewebselemente eine distinct blaue Färbung darbieten.

Am besten ist es, die Schnitte einfach in destillirtem Wasser der mikroskopischen Untersuchung zu unterwerfen, weil dabei der charakteristische Glanz des Amyloides am besten erhalten bleibt; letzterer schwindet etwas in Glycerin, das als Aufhellungsmittel für die erste Zeit sehr zweckmässig ist. Späterhin geht jedoch auch hierbei Kernfärbung und zuletzt auch diejenige des Amyloides selbst verloren. Dasselbe gilt vom Glycerinleim, der als Conservirungsmittel häufig Verwendung findet. Sind die Präparate jedoch vollständig säurefrei, so hält sich die Färbung bei beiden Stoffen recht lange Zeit, wenn sie auch allmählich etwas abblasst. Das idealste Conservirungsmittel ist unstreitig die Levulose (WEIGERT). Die Schnitte werden dazu mit Wasser auf den Objectträger gebracht, letzteres mit Fliesspapier vorsichtig entfernt und ein Tropfen des Stoffes zugesetzt. Lackrähmchen.

Ein nicht unzweckmässiger Ersatz für dieses etwas kostspielige Conservirungsmittel ist der officinelle Syrupus sacchari simplex. Derselbe hat nur den Nachtheil, dass, wenn das in ihm enthaltene Wasser verdunstet, Krystallisationsproducte im Präparate entstehen, die dasselbe in mehr oder minder hohem Grade schädigen. Deshalb ist gutes Umschliessen des Präparates mit Lack doppelt nöthig. Das Verfahren des Einlegens ist hier dasselbe, wie bei Levulose. Ich besitze Präparate, welche sich auf diese Weise vorzüglich gehalten haben. Einschliessen in Canadabalsam ist wegen der dabei nöthigen, vorherigen Behandlung mit Alkohol durchaus unzulässig.

Auch die Einwirkung anderer, in Wasser löslicher Anilin-Farbstoffe ruft schon Färbung der amyloiden Substanz hervor, allerdings nicht in einem von

Digitized by Google

UNIVERSITY

dem übrigen Gewebe differenten Farbenton. So z. B. hebt sich dieselbe bei Behandlung mit Bismarckbraun in Gestalt mattglänzender, blassbrauner Schollen von dem Gewebe ab, bei Einwirkung von Eosin nehmen letztere eine hellglänzend rosarothe Farbe an. Ein auffälligerer Farbencontrast entsteht bei Benützung des von CURSCHMANN (Virch. Arch. 1880. B. 79. S. 556) empfohlenen Methylgrüns. Die amyloid degenerirten Partien tingiren sich damit violett, die Kerne grün. Zusammensetzung der Farbstofflösung und Verfahren selbst ist genau so, wie bei Gentianaviolett. Die Methode hat jedoch nichts vor der mit Gentianaviolett voraus.

Ich möchte dem Bisherigen noch anfügen die Farbreaction auf einen Körper, auf den künftighin in der Pathologie die Augen sich mehr richten dürften, als dies bisher geschehen, ich meine damit die von RANVIER (Arch. de physiolog. No. II. 1884) Eleïdin genannte Substanz, die allem Anschein nach mit der Verhornung in Verbindung zu bringen, vielleicht auch dem Hyalin (von RECKLINGHAUSEN) an die Seite zu stellen sein dürfte. Dieselbe ist zuerst von RANVIER genauer dargestellt worden. SCHUCHARDT (Sammlung klin. Vorträge No. 257. S. 11) hat die RANVIER'sche Vorschrift in folgender Weise modificirt:

Derselbe bedient sich einer ammoniakalischen Pikrocarminlösung (1 : 10 000), die er sich in folgender Weise herstellen liess: „10,0 gr bestes Carmin in 50,0 gr Salmiakgeist gelöst, werden im Wasserbad zur Trockene eingedampft, der Rückstand nach sorgfältigem Zumischen von 2,5 gr Pikrinsäure und Uebergiessen von abermals 50,0 gr Salmiakgeist wiederum zur Trockene gebracht. Dieses Rohpikrocarmin wird in 250 gr heissem destillirtem Wasser gelöst, heiss filtrirt, der auf dem Filter befindliche Rückstand mit 100 gr heissem Wasser abgespült und die gemischten Flüssigkeiten abermals zur Trockene gedampft". Von diesem fertigen Pikrocarmin stellt man sich eine 1 prozentige wässrige Lösung dar. Dieselbe ist ein schnellwirkendes Kernfärbemittel. Will man sie zur Eleïdin-Darstellung verwenden, so verdünnt man sie mit dem Zehnfachen destillirten Wassers (1 : 1000) und bringt sie auf dem Objectträger ca. 5 Minuten lang auf die in absolutem Alkohol gehärteten Schnitte. Hierauf wird ein Tropfen Glycerin zugesetzt und das Präparat auf einige Stunden in eine feuchte Kammer gebracht. Die Eleïdinkörner bieten eine intensiv rothe Farbe dar. In Fällen, wo nur geringe Eleïdinbildung vorhanden ist, empfiehlt es sich, homogene Immersion mit ABBE'scher Beleuchtung anzuwenden. Ist die Blende weggenommen, so zeigen selbst die kleinsten Eleïdinkörner eine glänzend rothe Farbe.

Erst kürzlich ist von LEWIN (Berlin. klin. Wochenschr. 1886. No. 2.) eine weitere mikrochemische Reaction auf Eleïdin angegeben worden. Er bedient sich folgenden Verfahrens:

Ein dünner Hautschnitt wird auf dem Objectträger an der Luft angetrocknet, das Präparat hernach einige Male über eine Gasflamme gezogen, und darauf demselben einige Tropfen Essigsäure-Anhydrid, so dass es reichlich davon bedeckt ist, zugesetzt. Nunmehr bringt man etwas concentrirte Schwefelsäure mit der Spitze eines ausgezogenen Glasstabes auf die Mitte des Präparates, das alsbald eine streifig rosafarbige Tinction annimmt. Die Stelle entspricht mikroskopisch dem Stratum granulosum und lucidum, und geht allmählich durchs Violette ins Smaragdgrüne über.

Besonderer Beachtung empfehle ich im Anschluss daran die neuesten Untersuchungen von ALTMANN über die Zellgranula. (Studien über die Zelle 1886. Leipzig, Veit u. Cie.)

E. DARSTELLUNG VON MIKROSKOPISCHEN PRÄPARATEN.

I. Am frischen Objecte.

Zum Zwecke schnellerer Orientirung und um die Gewebs-Structur möglichst dem Natürlichen entsprechend zu studiren. Die Stellung einer sicheren Diagnose dabei ist für den Anfänger nicht selten mit Schwierigkeiten verknüpft,

Digitized by Google

da die Detailverhältnisse sich einem ungeübten Auge in frischem Zustande nicht immer so deutlich und klar präsentiren, wie am gehärteten und gefärbten Objecte. Betrifft dieselbe Substanzen flüssiger oder weicher Consistenz z. B. Blut, Exsudate, Cysteninhalt, Massen aus Erweichungsherden, so bringt man möglichst kleine Partien derselben unvermischt sowohl, wie nach Zusatz von 0,6 prozentiger Kochsalzlösung auf den Objectträger, bedeckt sie mit dem Deckgläschen und unterwirft sie bei schwächerer, sodann bei stärkerer Vergrösserung der mikroskopischen Untersuchung. Daran kann sich eventuell noch weiter Behandlung mit den oben besprochenen, chemischen Agentien (Säuren, Farbstoffen u. s. w) schliessen; letzteres entweder am frischen oder zuvor eingetrockneten (Mikroorganismen) Deckglasobjecte. Ausserdem ist nöthig durch ruhiges Stehenlassen am besten in einem Spitzglase die Massen sich in Schichten sondern zu lassen und jede derselben einzeln zu untersuchen. Daran hat sich unter Umständen noch eine genauere chemische Analysirung zu schliessen. Handelt es sich um feste Körper (Organtheile, Neubildungen und andere pathologische Producte), so kann das Verfahren in der Weise ausgeführt werden, dass man entweder bei Gewebstheilen, welche eine brüchige Consistenz besitzen (Leber, Milz, Nieren; Neubildungen, Hyperplasien von Drüsen u. s. w.), von einer frisch hergestellten Schnittfläche mit der Messerklinge abschabt, bei anderen, von zäherer Structur (Muskulatur, Bindegewebe, Lunge, Granulationsgewebe u. s. w.) mit der Schere feinste Schnitte abträgt und vorsichtig zerfasert. Noch besser ist es, sich Schnitte anzufertigen, was, wenn es aus freier Hand geschieht, immerhin eine gewisse Uebung voraussetzt; durch das Gefriermikrotom ist das Verfahren bedeutend vereinfacht und sollte als Vervollständigung der Sectionsdiagnose niemals unterlassen werden. Es ist nöthig, theils dünnere, theils dickere Schnitte zur Untersuchung zu verwenden; dieselben werden, nachdem sie in oben beschriebener Weise angefertigt, in 0,6prozentige Kochsalzlösung gebracht, dort durch Abspülen von den anhängenden Gewebspartikelchen befreit und vorsichtig auf dem Spatel ausgebreitet auf den mit einigen Tropfen Kochsalzlösung bedeckten Objectträger gebracht. Eine Abänderung erleidet das Verfahren nur, wenn es sich handelt, bestimmte Theile schärfer hervortreten zu lassen (Bacterien, Kerne, elastische Fasern) oder bestimmte Reactionen auszuführen (Kalk, Fett u. s. w.); dann ist der Zusatz von chemischen Agentien nöthig, der direct zu dem unter dem Deckgläschen befindlichen Präparate erfolgen kann. Sehr empfehlenswerth ist es, an den frischen Präparaten sofort die Härtung vorzunehmen. Es kommt dabei allerdings bisweilen vor, dass trotz aller Sorgfalt bei der Präparation die Schnitte schrumpfen, die Färbung auch nicht immer scharf genug ausfällt, doch spielt dies, den grossen Vortheilen gegenüber, den die Methode hat, keine Rolle. Die Schnitte werden in Kochsalzlösung aufs sorgfältigste auf einem breiten Spatel ausgebreitet und vermittelst desselben vorsichtig in rectificirten Alkohol übertragen, um Schrumpfung möglichst zu vermeiden. Dort verbleiben sie mindestens 5 Minuten. Längeres Liegenlassen (bis zu mehreren Stunden) schadet nichts, ist im Gegentheil erwünscht. Darauf werden sie je nachdem den verschiedenen, oben angegebenen Tinctionen unterworfen. Sollte sich ein mehrtägiges Aufbewahren der frischen Schnitte nothwendig machen, so müssen dieselben in die unter Conservirungsmittel näher bezeichnete Kochsalzchloralhydratlösung (9) eingelegt und in einer mit einem Deckel versehenen und feuchtem Fliesspapier ausgelegten Glasschale untergebracht werden.

II. Am gefärbten Präparate.

Liegt dasselbe in Müller'scher Flüssigkeit oder in Gemischen von chromsauren Salzen, so kann es direct aus diesen auf das Gefriermikrotom gebracht

Digitized by Google

und dort geschnitten werden. Sollte es sich daselbst nicht fixiren lassen, so ist ein Bestreichen seiner unteren Fläche mit flüssigem Leim, der beim Gefrieren in eine feste Masse erstarrt, nöthig. Die in Alkohol gehärteten Präparate bedürfen keiner weiteren Besprechung. Die angefertigten Schnitte werden einfach in Alkohol eventuell destillirtes Wasser übertragen und in gleicher Weise wie die erstgenannten nach den oben angegebenen Gesichtspunkten weiter behandelt. Was die Wahl der Farbstoffe bei Schnitten, die Pigmente u. s. w. enthalten, betrifft, so ist darauf zu halten, dass stets Contrastfarben angewendet werden (z. B. Hämatoidin, Gallenfarbstoff erfordern blaue oder rothe Kernfärbung, ingleichen Blut u. s. w.).

III. An eingebetteten Objecten.

Das hierbei einzuschlagende Verfahren ist schon oben — siehe Celloidin-, Paraffineinbettung u. s. w. — ausführlich abgehandelt.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte und mit Zuhilfenahme der oben beschriebenen Methoden ist im Wesentlichen stets bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen zu verfahren. Kleinere Abweichungen davon, die sich unter Umständen in diesem oder jenem Falle nöthig machen sollten, werden, auch ohne dass hier ausführlicher darauf hingewiesen, bei Bezugnahme auf die gegebenen Vorschriften unschwer ihre Erledigung finden. Dagegen soll sich dem Bisherigen noch eine kurze Aufführung solcher Untersuchungsmethoden anschliessen, welche ich auf Grund eigener Erfahrung als besonders geeignet für bestimmte Organe gefunden habe.

F. UNTERSUCHUNGSMETHODEN EINZELNER ORGANE.

I. Blut.

1. Darstellung der Häminkrystalle:

Eingetrocknetes Blut wird auf den Objectträger gebracht mit einigen Tropfen acid. acet. glacial. versetzt und der Masse noch ausserdem ein kleiner Kochsalzkrystall beigegeben. Darauf wird das Ganze langsam und vorsichtig erwärmt bis Luftblasen aufzusteigen beginnen. Hernach lässt man die Masse erkalten, bedeckt sie mit einem Deckgläschen und nimmt die weitere mikroskopische Untersuchung vor.

Sollten die Blutmassen an Kleidungsstücken u. s. w. haften, so ist ein zuvoriges Auslaugen mit destillirtem Wasser nöthig.

Handelt es sich um die Darstellung der Krystalle aus flüssigen Massen, so wird ein Tropfen derselben mit einem kleinen Tropfen 0,6 prozentiger Kochsalzlösung auf dem Objectträger vermischt und daselbst unter gelindem Erwärmen eingetrocknet. Die eingetrocknete Masse wird fein zerrieben, mit einem Tropfen Eisessig versetzt und in obiger Weise weiter verfahren.

Die entstandenen Häminkrystalle zeigen eine rhombische Gestalt, verschiedene Grösse und eine dunkelbraune Farbe. Sie lösen sich nicht in Wasser.

2. Färbung der eosinophilen Zellen nach Ehrlich:

Damit die Färbung in richtiger Weise sich vollzieht, ist vorsichtiges und langdauerndes Erwärmen vor allem nöthig. Zu dem Behufe muss das Blut, das in möglichst dünner Schicht auf das Deckgläschen gebracht worden ist, 10—12 Stunden lang, was der genauen Controlirung halber mit Unterbrechung geschehen kann, auf einer Messingplatte einer Temperatur von 120 ° C. ausgesetzt werden. Darauf werden die Deckglaspräparate verschieden lange Zeit

Digitized by Google

— ½ Stunde bis einige Tage — in folgende Farbflüssigkeit gebracht: Aurantia, Indulin und Eosin aa 2,0 gr, Glycerin 30,0 gr (die Masse ist vor dem Gebrauche stark umzuschütteln), hernach vorsichtig in destillirtem Wasser ausgewaschen, und nachdem sie vollkommen lufttrocken geworden, mit Canadabalsam versetzt. Man erhält, wenn man genau nach dieser Vorschrift verfährt, vorzügliche Bilder, wie ich an Präparaten von Professor HEUBNER hier mich mehrfach zu überzeugen Gelegenheit hatte. Die Zellkerne färben sich schön blau, die eosinophilen Zellen zeigen das Protoplasma scharf roth gekörnt, die rothen Blutkörperchen tragen die charakteristische Gelbfärbung u. s. w. Es ist das Verfahren sehr zu empfehlen bei Untersuchungen über Leukämie, perniciöse Anämie; in letzterem Falle besonders wegen der kernhaltigen rothen Blutkörperchen u. s. w.

Ausser dieser existiren sowohl von EHRLICH wie von anderen Autoren eine weitere Zahl von Vorschriften zur Conservirung und Färbung des Blutes. Ich erwähne speciell die Osmiumsäurebehandlung (siehe oben bei Osmiumsäure). Ein einfaches Verfahren besteht auch darin, das auf dem Deckgläschen eingetrocknete Blut 3—4 Mal vorsichtig durch eine Flamme zu ziehen und hernach mit einer 2prozentigen Gentianaviolett- oder Fuchsinlösung 1—2 Minuten in Berührung zu bringen, mit Wasser sorgfältig abzuspülen und trocknen zu lassen. Canadabalsam. Die Kerne der weissen Blutkörperchen färben sich schön blau resp. roth. Die rothen Blutkörperchen zeigen, wenn die Procedur gelungen, eine blassgelbe Farbe und ihre natürliche Gestalt. Ist für die verschiedensten Processe verwendbar. Kurze Nachfärbung mit dünner Eosinlösung tingirt das Protoplasma der weissen, sowie die rothen Blutkörperchen blassroth.

II. **Drüsige Organe** z. B. Leber, Nieren.

Sind mit den verschiedenen obengenannten Färbemethoden zu behandeln. Für cirrhotische Zustände, Neubildungen, Gummata in der Leber, Hämatoxylin-Eosinbehandlung sehr gut; bei biliärer Cirrhose blaue oder rothe Kernfärbung am Platze. Eine sehr gute Methode zur Erhaltung des Gallenfarbstoffes in den Gallencapillaren besteht in 24 Stunden langem Einlegen kleiner Stücke, sowie der Schnitte selbst in eine 5prozentige Lösung von doppeltchromsaurem Kali, darauf unmittelbar folgendem Uebertragen in absoluten Alkohol und Weiterbehandlung mit Nelkenöl, Balsam. Wasser ist dabei zu vermeiden. Nieren: Färbung, wie bei der Leber. Handelt es sich um Erhalt von Cylindern: Kochmethode.

III. **Haut.**

Eine sehr zweckmässige Färbung, besonders bei Cankroiden, Condylomen, ist die mit Pikrocarmin. Letzteres wird auch bei Eleïdinnachweis in Verwendung gezogen (siehe oben). Bei Oedem der Haut, wie bei dem anderer Körpertheile ist die Kochmethode zweckmässig.

IV. **Herz- und Circulationsapparat.**

Bei endocarditischen Processen, Thromben u. s. w.: Celloidineinbettung mit nachheriger Alauncarminfärbung sehr zu empfehlen.

V. **Knochensystem.**

Sind die Knochen in obengenannter Weise entkalkt, so können die Schnitte entweder an dem in Celloidin eingelegten Präparate angefertigt werden, oder, was für manche Verhältnisse wünschenswerther ist (Bacteriennachweis), nachdem sie zuvor 5—10 Minuten in destillirtem Wasser gelegen, vermittelst

Digitized by Google

des Gefriermikrotoms mit nachfolgender Härtung in absolutem Alkohol. Nach letzterer Methode habe ich sehr schöne Schnitte, z. B. von tuberkulöser Wirbelcaries erhalten, bei welchen mir sowohl gute Kernfärbung, wie der Nachweis von Bacillen gelang. Alauncarminfärbungen, sowie Doppelfärbungen mit Eosin und Hämatoxylin geben sehr schöne Bilder. Als weitere Tinctionen die übrigen Carminfärbungen zu verwenden.

VI. Lunge.

Bei Oedem: Kochmethode. Noch einige Worte über den Nachweis der Fettembolie: Die von E. WAGNER zuerst eingehender beschriebene Fettembolie der Lunge findet sich neueren Untersuchungen zufolge viel häufiger, als man bisher annahm, bei allen solchen Processen, bei denen die Aufnahme flüssigen Fettes in das Gefässsystem ermöglicht ist, nicht allein in den Lungen, sondern auch in den andern Körperorganen vor. Für uns specielles Interesse hat ihr Nachweis in ersterem Organe. Derselbe wird in einfacher Weise geführt: Man trägt von einer frischen Schnittfläche mit der Schere einen feinen Flachschnitt ab, spült ihn in mehrfach zu wechselndem, ausgekochtem destillirtem Wasser ab, bringt ihn mit Wasser auf den Objectträger und unterwirft ihn bei schwacher Vergrösserung der mikroskopischen Untersuchung. Das Fett tritt dann in seinem charakteristischen, mattglänzenden Aussehen hervor. Schöne Präparate liefert auch Osmiumsäurebehandlung.

VII. Schleimhäute.

Für Schleimhäute jeder Art ist die Celloidineinbettung und nachherige Alauncarminfärbung ein sehr geeignetes Verfahren.

VIII. Nervensystem.

Unter den mannigfachen Untersuchungsmethoden, welche hierzu angegeben worden sind, führe ich folgende specieller an:

1. Für Gehirn- und Rückenmark die Hämatoxylinferridcyankalium-Methode nach WEIGERT:

Bei der grossen Wichtigkeit, welche gerade gute Härtung der Objecte für derartige Untersuchungen beansprucht, schicke ich eine ausführliche Mittheilung des bei der Härtung des Gehirns und Rückenmarks einzuschlagenden Verfahrens voraus. Gehirn und Rückenmark sollen möglichst bald nach dem Tode dem Körper entnommen werden. Bei dem Gehirn werden die Seitenventrikel eröffnet, die grossen Ganglien einige Male frontal eingeschnitten, sowie einige Schnitte durch Pons, Medulla oblongata und eventuell auch die Hemisphären gelegt; das Rückenmark wird mehrfach seiner ganzen Quere nach durchschnitten. Darauf werden die Organe zuerst acht Tage lang mit zweitägigem Wechseln in geräumige, mit reichlicher MÜLLER'scher Flüssigkeit erfüllte Gläser gebracht und bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann 14 Tage lang unter drei- und viertägiger Erneuerung der Erhärtungsflüssigkeit im Wärmekasten bei einer Temperatur von nicht unter 30° C. und nicht über 40° C. gehalten, wobei nach zweimaligem Wechseln an Stelle der MÜLLER'schen Flüssigkeit eine höchst concentrirte Lösung von doppelchromsaurem Kali tritt. Darauf haben die Objecte die nöthige Consistenz und Färbefähigkeit erreicht. Es ist dies ausser der oben besprochenen EHRLICKI-schen Methode — siehe Härtung — das schnellste Verfahren zur Härtung. Am schonendsten und empfehlenswerthesten ist aber immer noch die alte Vorschrift, die Objecte in möglichst kleinen Stücken bei oftmaligem Umlegen in frische Flüssigkeit wochenselbst monatelang bei gewöhnlicher Zimmertemperatur der Härtung zu unterwerfen. An Bulbis ist die Procedur eine ähnliche. Dieselben kommen in toto, die Sclera an einigen Stellen leicht eingeschnitten, 14 Tage bis 4 Wochen (längeres Liegen schadet nichts) in

Digitized by Google

Müller'sche Flüssigkeit, welche im Anfang jeden Tag, später alle 2—3 Tage gewechselt wird. Die Härtung geht bei Brütofentemperatur (30—35° C.) schneller vor sich. Die Objecte sind dann schon nach 14 Tagen schnittfähig. Sie werden in Celloidin, Oel und Wachs, Paraffin eingebettet und entweder in nachfolgender Weise oder mit Alauncarmin, Anilinfarben u. s. w. gefärbt.

Ist der entsprechende Grad der Härtung erreicht, so werden die Theile, ohne vorher ausgewässert zu werden, in Alkohol gebracht, woselbst sie noch einige Tage verbleiben und darauf folgendem zweiten Verfahren unterworfen werden: a) Vorbereitende Einbettung in Celloidin, Befestigung auf dem Mikrotomkorke, und nachdem sie daselbst fest geworden, Uebertragung in eine gesättigte, mit dem gleichen Volumen destillirten Wassers verdünnte, filtrirte Lösung von essigsaurem Kupferoxyd, worin sie bei Brütofentemperatur (35—40° C.) 1—2 Tage verbleiben. Sie nehmen dabei eine grüne Farbe an und können nunmehr in 80 prozentigem Alkohol aufbewahrt werden. b) Die davon angefertigten Schnitte werden, ohne dass die Einbettungsmasse zuvor aufgelöst wird, direct aus Alkohol — nicht in Wasser bringen! — in folgende Flüssigkeit gebracht: Haematoxylin 0,75—1,0, Alkohol 10,0, Aqu. destill. 90,0, gesättigte Lösung von Lithium carbonicum 1,0. Daselbst bleiben sie 6—24 Stunden liegen. Genauere Zeitangaben lassen sich nicht machen. Nöthigenfalls muss von Zeit zu Zeit eine Voruntersuchung vorgenommen werden. Bei Rückenmarksschnitten sind gewöhnlich nur wenige Stunden erforderlich. Unter Umständen kann man auch Brütofentemperatur von 35—40° C. dabei in Anwendung ziehen. Aus der Farbflüssigkeit kommen die Schnitte weiter unmittelbar in eine zweite Flüssigkeit folgender Zusammensetzung: Borax 2,0, Ferridcyankalium 2,5, Aqu. destill. 200,0. Die gleichmässig schwarz gefärbten Schnitte verlieren allmählich diese Tinction und nehmen mehr und mehr deutliche Differenzirung an, wobei sich die schwarz gefärbte weisse Substanz genau absetzt gegenüber der mattgrauweissen grauen Substanz. Die Zeitdauer ist auch hier eine verschiedene: oft ist die Differenzirung schon nach einer Viertelstunde eingetreten, oft bedarf es dazu einer, selbst mehrerer Stunden.

Daran schliesst sich ein Abspülen in reichlichem destillirtem Wasser, dann Uebertragen in rectificirten Alkohol, Origanumöl (Xylol verursacht nicht selten Schrumpfung des Präparates, löst aber nicht den Celloidinmantel auf), Conservirung in Canadabalsam.

Die Nervenfasern (Markscheiden) erhalten eine exquisit schwarbraune, gewöhnlich rein schwarze Farbe, während Ganglienzellen, Axencylinder, sowie die übrigen Zellen und Kerne keine oder eine äusserst mattgraue Tinction darbieten.

Zum Gelingen der Färbung sind sorgfältiges Arbeiten, reichliche und öfters zu wechselnde Flüssigkeiten und, wenn nöthig, zeitweise controlirende Untersuchung mit dem Mikroskope nöthig.

Ich verweise dazu betreffs Verwendung der genannten Färbung für Nerven auf die Mittheilung von Gelpke (Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. 1885. B. II. S. 484 ff.), welcher zum Entfärben Verdünnungen der angegebenen Flüssigkeit bis zum 50 fachen anwendet und die Schnitte 1 bis 12 Stunden daselbst liegen lässt.

Ebenfalls gute Resultate ergibt, wenn sie allerdings auch nicht so gleichmässig schöne Bilder liefert, wie die erstere, die nach dem Vorgang Flechsig's von Freud angegebene Goldmethode (Centralblatt f. d. medic. Wissensch. 1884. No. 11):

„Schnitte der in Ehrlicki'scher Flüssigkeit erhärteten Präparate werden aus Wasser in eine einprozentige wässrige Goldlösung gebracht, die mit dem gleichen Volumen 95 prozentigen Alkohols versetzt worden ist. Nach 4—5 stündigem Verweilen werden sie mit einem reinen Holzstift herausgehoben, in destillirtem Wasser ausgewaschen und in ein Schälchen mit starker Natronlauge (1 gr Natr. caust. fus. auf 5—6 Theile Wasser) übertragen, in welcher sie zumeist sofort durchscheinend werden. Nach 2—5 Minuten werden sie daraus mit einem Holzstift entfernt, und nachdem die überschüssige Flüssigkeit mit Filtrirpapier abgezogen, in eine 10 prozentige Lösung von Jodkalium auf 5—10 Minuten gebracht. Sie nehmen daselbst alsbald eine zarte Rosafärbung an, die allmählich bis zum dunklen Roth übergeht. Schnitte aus dem Organ Erwachsener können nun direct in destillirtes Wasser übertragen und dort reichlich ausgewaschen werden, die von Neu-

Digitized by Google

geborenen oder Embryonen müssen, ehe dieses geschieht, auf dem Objectträger durch Fliesspapier entlaugt werden. Nach dem destillirten Wasser kommen sie in absoluten Alkohol und werden in gewöhnlicher Weise weiter behandelt. Ungeeignet zur Farbreaction sind Präparate, welche durch zu langes Lagern in Chromsalzlösung überhart und brüchig geworden sind. Die Färbung variirt vom reinen Schwarz auf dunkelrothem bis zum Blau auf ganz lichtem Grunde. Am häufigsten erhält man dunkelrothbraune Fasern auf lichtrothem Grunde. Die Färbung betrifft die groben und feinen markhaltigen Fasern nebst den grossen Nervenkernen und deren Ausläufern".

Gilt es Axencylinder, Neuroglia zur Anschauung zu bringen, so sind die verschiedenen Carminfärbungen, sowie Nigrosin in Anwendung zu ziehen.

2. Für periphere Nervenfasern: Die Osmiumsäurebehandlung nach den oben angegebenen Principien.

3. Für Nervenendigungen: Hierzu gebe ich ein Verfahren an, das SANDMANN (über die Vertheilung der motorischen Endapparate in den Muskeln u. s. w., Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abth., 1885. S. 240 ff.) zum Nachweis der Nervenendigungen in den quergestreiften Muskeln angegeben, das mir werth erscheint, auch für unsere Zwecke versucht zu werden. Ich gebe die ausführliche Vorschrift beifolgend wieder:

Der zu untersuchende Muskel wird in einzelne, dünne, der Faserung parallele Streifen zerschnitten, in ein Reagenzglas gebracht und mit schwefliger Säure der Concentration, wie sie im Handel vorkommt, übergossen. Hierauf wird das Reagenzglas wohl verkorkt, und das Muskelstückchen ohne Erneuerung der Flüssigkeit, je nach seiner Grösse und seinem Reichthum an Bindegewebe 1—8 Tage daselbst belassen. Darauf wird es herausgenommen, tüchtig in destillirtem Wasser ausgewaschen und in einem, gleichfalls mit destillirtem Wasser gefüllten Reagenzglase drei- bis viermal über der Spiritusflamme gekocht, und zwar so, dass vor dem jedesmaligen Aufkochen das Wasser erkalten gelassen oder das heisse Wasser durch kaltes ersetzt wird. „Durch etwas stärkeres Schütteln der Flüssigkeit wird nunmehr das Muskelstück in seine Primitivbündel zerlegt. Hernach werden einige der isolirten Fasern in ein Reagenzglas gebracht, in welchem sich verdünnte wässerige Goldchloridlösung befindet (auf ca. 10 cbcm Wasser kommen 1—3 Tropfen einer einprozentigen wässerigen Goldchloridlösung). Wenn die Fasern eine gelbliche Färbung angenommen haben, was gewöhnlich nach einigen Minuten erfolgt ist, so wird die Goldlösung abgegossen und durch ein gleichgrosses Quantum destillirten Wassers zum Auswaschen ersetzt, dieses wiederum entfernt und durch dieselbe Quantität, der ein Tropfen concentrirte Essigsäure zugesetzt ist, substituirt. Nunmehr wird die Flüssigkeit bis zum Sieden erhitzt; nach wenigen Minuten schon ist die Reduction vollzogen, die sonst 24 Stunden in Anspruch nimmt, die Fasern nehmen eine hellrosa bis tiefblaue Färbung an, die markhaltigen und marklosen Nerven tingiren sich dagegen dunkler als die Muskeln bis zum tiefen Schwarz. Die Untersuchung und Einbettung geschieht in Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen, wozu ein Tropfen Essigsäure gesetzt wird".

Ausserdem verweise ich, als eventuell zu versuchen, auf die oben bei Angabe der „Goldmethode" näher geschilderten Vorschriften.

Noch eine kurze Erwähnung mögen finden die

IX. Plasma- oder Mastzellen.

Dieselben kommen bekanntlich weit verbreitet und oft in grösster Reichlichkeit im normalen Körper sowie bei fast sämmtlichen pathologischen Zuständen vor. Ihr Sitz ist das Bindegewebe. An Grösse übertreffen sie die farblosen Elemente um das Doppelte bis Dreifache. Sie zeigen eine glatte Gestalt und ein stark und ziemlich gleichmässig granulirtes Protoplasma. Der Kern ist an der ungefärbten Zelle nur schwer zu erkennen. Mit Bacterien- und kernfärbenden Anilinfarbstoffen nimmt ihr Protoplasma eine intensive, in Ge-

Digitized by Google

stalt ziemlich gleich grosser Körner hervortretende Tinction an, so dass dieselben häufig den Eindruck von Mikrokokkencolonien erwecken. Die Täuschung wird noch vermehrt, wenn es sich um isolirte Bacterientinctionen handelt (z. B. bei GRAM'scher Methode), bei denen sie gleichfalls unverändert ihren Farbenton beibehalten. Es schützt dann nur vor Verwechslung die Berücksichtigung ihrer Gestalt, ihr gewöhnlich häufigeres Nebeneinandervorkommen im Bindegewebe, sowie der bisweilen sichtbare, nicht gefärbte, als blasser Fleck erscheinende Kern. Eigenthümlich ist den Mastzellen noch, dass sie ähnliche Farbreaction zeigen, wie die amyloide Substanz, sowohl bei Behandlung mit Gentianaviolett und Essigsäure, wie bei derjenigen mit LUGOL'scher Lösung und sich nur bei Combination letzterer mit Schwefelsäure geringe Farbdifferenzen ergeben. Ich muss in dieser Beziehung vollkommen mit RAUDNITZ übereinstimmen (SCHULTZE's Archiv 1883. B. 22. S. 228). Besonders bei der Gentianaviolettreaction treten die einzelnen Körner des Protoplasma exquisit roth gefärbt hervor gegenüber dem eine schön blaue Tinction darbietenden Kern.

G. AUFHELLUNGS- UND CONSERVIRUNGSSTOFFE.

Wir sind im Besitze einer Zahl von Stoffen, welche sich in physikalischer Beziehung durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen auszeichnen. Dieselben haben für uns den gemeinsamen Zweck, das Präparat durchsichtiger und dadurch in mancher Hinsicht der Untersuchung zugänglicher zu machen. Es gilt dies sowohl vom frischen, wie vom gehärteten Objecte, zumal wenn dasselbe noch mit Farbstoffen behandelt worden ist. Diejenigen unter diesen Substanzen, welche an der Luft keine weiteren Veränderungen eingehen, und in Folge ihres Consistenzgrades und ihrer chemischen Beschaffenheit ein dauerndes Erhalten des Präparates sichern, finden Verwendung zur definitiven Conservirung. Ein anderer Theil von Agentien, welche eine verhältnissmässig zu dünnflüssige Consistenz besitzen, und durch ihr rascher oder langsamer eintretendes Verdunsten das Präparat leicht schädigen können, benützen wir als Vorbereitungsmittel zur Conservirung — zur Aufhellung.

I. Aufhellungsstoffe.

Eine ganze Zahl steht uns davon zur Verfügung. Trotz ihrer physikalisch gleichen Eigenschaften ist ihre Auswahl eine keineswegs beliebige, sondern einzelne unter ihnen sind nur für ganz bestimmte Zwecke anzuwenden. In die Reihe der Aufhellungsstoffe gehören sämmtliche ätherische Oele; das gebräuchlichste und für die meisten Fälle geeignetste ist das Nelkenöl. Eine besondere Verwendung findet das Origanumöl (erste Qualität): Celloidinpräparate behalten in demselben ihre Einbettungsmasse, während sie durch all die übrigen hierher gehörigen Stoffe mit Ausnahme des Xylols dieselbe verlieren. Letzteres hat den Nachtheil, dass die Schnitte leicht schrumpfen. Bergamottöl soll nach DAMSCH die Tuberkelbacillenfarbe länger intact lassen, als Nelkenöl. Unter weiteren Stoffen nenne ich: Terpentinöl und Cedernöl. In beiden, besser in letzterem, erhält sich gleichfalls die Tuberkelbacillenfärbung dauernder wie in Nelkenöl. Beide sind aus letzterem Grunde noch ausserdem als Aufhellungsmittel, für Mikroorganismenpräparate überhaupt zu empfehlen. Endlich sind hierher zu stellen das Xylol und Creosot.

II. Conservirungsmittel.

1. Glycerin. Ist als Aufhellungsmittel sehr zweckmässig in Folge seines starken Lichtbrechungsvermögens, welches doch nicht so hoch ist, wie

Digitized by Google

das des Canadabalsams und der harzigen Substanzen, und deshalb einen besseren Einblick in die Gewebsstructur, besonders auch am ungefärbten Präparate gewährt, wie diese. Es ist in möglichst reinem Zustande zu verwenden und hat das Angenehme, dass es sich mit Wasser und Alkohol mischt. Zur Untersuchung und Conservirung fettiger, amyloider und hyaliner Substanzen ist es nicht sehr geeignet, da dieselben wegen ihres ähnlichen Lichtbrechungsvermögens zu wenig darin hervortreten.

2. Ein Gemisch dieses Stoffes mit Gelatine stellt den sogenannten Glycerinleim dar. Derselbe erstarrt an der Luft zu einer festen, durchsichtigen Gallerte und dient denselben Zwecken wie Glycerin. Darstellung: 1 Theil gute Gelatine und 1 Theil destillirten Wassers werden zusammen erwärmt bis zur völligen Auflösung, darauf wird 1 Theil Glycerin zugesetzt, die Masse innigst vermengt, nochmals erwärmt, warm filtrirt, in ein Reagenzglas gegossen und dort erkalten gelassen. Bei dem jedesmaligen Gebrauche wird die oberste Schicht der Masse an der Flamme vorsichtig und langsam erwärmt, so dass keine Luftblasen sich bilden. Hierauf wird der mit Wasser auf den Objectträger gebrachte Schnitt, nachdem die Flüssigkeit mittelst Fliesspapier möglichst vollständig entfernt, mit einem Tropfen des Leimes bedeckt und das Deckgläschen darüber gelegt.

3. Canadabalsam, unter den verschiedenen Harzen am gebräuchlichsten. Man verwendet denselben in beliebiger Verdünnung mit Terpentinöl, Xylol, Benzol, Chloroform. Die Chloroformlösung wird am schnellsten fest. Bei Mikroorganismenpräparaten muss dickflüssiger Balsam, welcher vor dem Gebrauche erst erwärmt werden muss, vermieden werden, weil dabei häufig die Farbe auszieht. Dagegen kann derselbe zu diesem Zwecke mit Xylol oder Terpentinöl verdünnt sein.

4. Damarlack, ähnlich wie Canadabalsam. Man bediene sich Auflösungen desselben in Terpentinöl oder einer Mischung von Terpentinöl mit Benzol. In letzterer werden die Präparate schneller fest.

5. Auflösungen von Colophonium in Terpentinöl kommen gleichfalls zur Verwendung. Sie trocknen aber sehr langsam ein.

6. Levulose und Zuckersyrup, beide für Amyloidpräparate sehr zu empfehlen (siehe oben unter Amyloid).

7. Gummischleim, Jodglycerin und Jodgummi für Glycogen (siehe oben unter dem betreffenden Artikel).

8. Eine weitere Conservirungsweise besteht in dem Gebrauche des essigsauren Kali (M. Schultze), welches in seiner Wirkungsweise das Glycerin noch in so fern übertrifft, als es ein geringeres Lichtbrechungsvermögen, wie dieses, besitzt. Immerhin ist es nur in beschränktem Grade leistungsfähig, weil die Präparate mit der Zeit darin Zersetzungen anheimfallen. Anilingefärbte Bacterienpräparate sollen sich dagegen nach Fol gut darin halten.

9. Als weitere Mischungen sind noch empfohlen: verdünnte Sublimatlösung, verdünnte Lösungen der Chromsäure und chromsauren Salze, sowie der arsenigen Säure. Sie eignen sich sämmtlich wie das essigsaure Kali, besonders auch für frische Schnitte, leiden aber alle mehr oder minder an demselben Uebelstande, wie dieses. Heller hat kürzlich (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1885. B. II. S. 47) zum Zwecke der Conservirung frischer Mikrotomschnitte zugleich mit Erhaltung der Farbe und Gestalt der rothen Blutkörperchen eine $^3/_4$ prozentige Kochsalzlösung, zu der 1 % Chloralhydrat gesetzt wird, empfohlen. Die Stücke, von denen die Schnitte

Digitized by Google

angefertigt werden, kommen zuvor 1 Stunde in eine einprozentige chromsaure Kalilösung und werden in dieser oder nach Abspülen mit destillirtem Wasser geschnitten.

Bisweilen macht sich das Umschliessen der Präparate (Glycerin, Zuckersyrup u. s. w.) mit einem Rähmchen nothwendig. Es können dazu die verschiedensten Lacke mit oder ohne Beimischung von Farbstoffen verwendet werden, unter welchen ich besonders hervorhebe den sogenannten Firnisslack, bereitet durch mehrtägiges Digeriren von feinem Siegellack mit Alkohol bis zur Syrupconsistenz, den Maskenlack, Asphaltlack u. s. w.

H. CONSERVIRUNGSWEISE.

Noch wenige Worte lasse ich zum Schlusse folgen über das Verfahren, welches bei der definitiven Conservirung innezuhalten ist. Handelt es sich um die Conservirung in Glycerin, Glycerinleim, Zuckersyrup, Levulose, so müssen die Präparate zuvor in Wasser gelegen haben und mit diesem auf den Objectträger gebracht werden. Soll dagegen das Einlegen in Canadabalsam erfolgen, so werden die Schnitte aus den obengenannten „Aufhellungsstoffen" auf das Objectglas übertragen, nachdem sie zuvor noch einige Zeit in absolutem Alkohol suspendirt gewesen waren. Vorsichtiges Auflegen auf den Spatel, schonendes Abziehen von demselben und subtiles Ausbreiten auf dem Objectträger ist zur Herstellung guter Präparate von besonderer Wichtigkeit. Dazu kommt noch weiter möglichst vollständige Wegnahme der Flüssigkeit, mit welcher die Schnitte auf den Objectträger gebracht wurden. Am besten geschieht dies durch Fliesspapier, das an die seitlichen Theile des Präparates angelegt wird. Liegt der Schnitt in einer „aufhellenden Flüssigkeit", so können die letzten Reste derselben dadurch entfernt werden, dass ein mehrfach zusammengefaltetes Stück Fliesspapier einige Male sanft und gleichmässig auf das Object selbst aufgedrückt wird. Beim Umrahmen muss darauf gesehen werden, dass die unter dem Deckgläschen befindliche Flüssigkeit nur bis unmittelbar an die Ränder desselben sich erstreckt und dass das Deckgläschen allseitig und gleichmässig dem Präparate aufliegt. Difficile Ausführung auch dieser letzten Proceduren sind zum Gelingen eines allen Anforderungen entsprechenden mikroskopischen Präparates ebenso unerlässlich, wie die anderen dabei erforderlichen Maassnahmen.

Digitized by Google

II.

Bacteriologischer Theil

von

Dr. Arno Becker.

Die Kenntnisse auf dem Gebiete der Aetiologie der Infectionskrankheiten waren noch bis in die neueste Zeit hinein sehr mangelhafte und schwankende. Die geniale Darlegung HENLE's, der im Jahre 1840 in seinen „pathologischen Untersuchungen" wohl zum ersten Male die ursächlichen Momente der Wirkung in organisirten Krankheitserregern suchen zu müssen glaubte, blieb eine theoretische Deduction noch lange Zeit, ja vielleicht wäre sie wieder in Vergessenheit gerathen, wenn nicht der Untersuchungsmethodik eine bestimmte Form gegeben worden wäre. Es sind ja die Verdienste, welche F. COHN, PASTEUR, v. PETTENKOFER, KLEBS, BREFELD u. A. sich in dieser Richtung erworben haben, nicht genug anzuerkennen, indess sie alle geben noch nicht geeignete Directiven zu einer allgemein verwendbaren Forschungsart.

Dies war vielmehr einem Manne vorbehalten, dessen Name mit den grossartigen Erfolgen der modernen Forschung auf diesem Gebiete eng verknüpft ist, es ist ROBERT KOCH. Durch seine bacteriologischen Untersuchungsmethoden hat er den Weg gezeigt, auf dem man zur Erkenntniss der kleinsten und feinsten Infectionsträger mit Sicherheit gelangen kann.

In diesem Anhang soll nun nicht etwa das ganze grosse Material bacteriologischer Forschung, wie es jetzt vorliegt, behandelt werden, vielmehr liegt die Absicht vor, eine kurze Uebersicht der Methodik und ihrer Erfolge für den Anfänger und gewisse Anhaltspunkte für geübtere Arbeiter auf diesem Gebiete zu bringen, ohne dabei Rücksicht zu nehmen auf unwesentliche oder nur für den Einzelfall wichtige Abweichungen. Der Verfasser glaubt nun, dass zu diesem Behuf es am zweckmässigsten sei, wenn die Beschreibung der Untersuchungsmethoden sich hält an die für jede regelrechte bacteriologische Arbeit nach KOCH zu stellenden Forderungen, die zusammengefasst sind in den Sätzen:

1. Regelmässiger Nachweis bestimmter Bacterien in den Zersetzungs- und Krankheitsproducten und Beobachtung der biologischen und morphologischen Eigenschaften.
2. Isolirung und Reinzüchtung der gefundenen Bacterien.
3. Uebertragung wirklicher Reinculturen auf zersetzungsfähige Substanzen oder empfängliche Thiere zur künstlichen Erzeugung des Vorganges, dessen Ursache dieselben sein sollen.

1. Der regelmässige Nachweis bestimmter Bacterien in den menschlichen oder thierischen Organen, welche durch gewisse Krankheiten Veränderungen erfahren haben, sowie in den während des Lebens entleerten Se- und Excreten kann natürlich bei der Kleinheit der in Frage kommenden Mikroorganismen nur mittelst des Mikroskops erfolgen. Die Anwendung der gewöhnlichen Systeme würde dazu nicht mehr hinreichen, da man eben wegen der Feinheit und Kleinheit der Bacterien nur unsichere Resultate erhalten würde. In der vorangehen-

Digitized by Google

den Abhandlung des Herrn Dr. HUBER ist die Ausstattung der jetzt gebräuchlichen Mikroskope bereits beschrieben worden, nur auf einige für dieses Gebiet wichtige Punkte muss hier hingewiesen werden.

Zur Beleuchtung reicht für die Bacterienuntersuchung die gewöhnliche Lichtquelle eines Hohlspiegels nicht aus, vielmehr müssen hier die Beleuchtungsapparate oder Condensoren Verwendung finden. Nicht etwa aber alle möglichen derartigen Apparate besitzen die erforderliche Leistungsfähigkeit, vielmehr muss man mit KOCH verlangen, dass der „Beleuchtungskegel eine so grosse Oeffnung besitzt, dass die Diffractionserscheinungen gänzlich zum Verschwinden gebracht werden". Der wohl am meisten verwandte Condensor ist der sogenannte ABBE'sche Beleuchtungsapparat mit einem Lichtkegel von 120° Oeffnungswinkel. Unterhalb des Objecttisches angebracht wird er in die Beleuchtungsöffnung des letzteren so eingeschoben, dass die von dem in einem gewissen Abstand angebrachten Spiegel gegebenen Lichtstrahlen durch die Linsencombination so gebrochen werden, dass die grösste Lichtintensität, Spitze des Lichtkegels, in das auf dem Objecttisch befindliche Präparat zu liegen kommt. An den von ZEISS construirten Mikroskopen ist der ABBE'sche Condensor so gestellt, dass die oberste Linse ein klein wenig tiefer zu stehen kommt, als die Fläche des Objecttisches, wodurch das eben beschriebene Verhältniss erreicht wird. Zwischen der untersten Linse und dem Beleuchtungsspiegel, im Brennpunkte des Spiegels, ist ferner noch ein „Diaphragmaträger" eingeschaltet, der, wie der Name sagt, die Blenden aufnimmt. Letztere sind gleichfalls für diese Untersuchung unentbehrlich, es gehört ein ganzer Satz mit verschieden weiten Oeffnungen zu einem zweckentsprechenden Instrument. Durch die Anwendung derselben ist es ermöglicht, das sogenannte Structurbild eines Präparates zu Gesicht zu bringen, während nach Ausschaltung derselben in gefärbten Präparaten die Structuren zum Verschwinden gebracht werden können, intensiv gefärbte Theile derselben aber, wie Kerne und Bacterien, sich deutlich abheben. Je nachdem es auf Verdeutlichung des Structur- oder Farbenbildes ankommt, wird sich die Verwendung der Blenden gestalten.

Eine genaue Untersuchung von Mikroorganismen kann nur mit Hilfe der Immersionsobjectivlinse vorgenommen werden, da sehr kleine Bacterien wegen der unvermeidlichen Verdunkelung bei Benutzung sehr starker Trockensysteme leicht übersehen werden können. Damit soll nicht gesagt sein, dass eine Diagnose bekannter und vielleicht durch Färbungsdifferenzen verdeutlichter Bacterien, wie es z. B. von den Tuberkelbacillen gilt, nicht möglich wäre, aber zu einer exacten Forschung gehört mehr als das blosse Wahrnehmen der Mikroorganismen und hierzu ist ein Immersionssystem unentbehrlich. Das Wesen desselben beruht in der Herstellung einer optisch-homogenen Zwischenschicht zwischen dem Deckglas und der Frontlinse des Systems. Es kommt also alles darauf an, für die bei Trockensystem vorhandene Luftzwischenschicht ein dem Crownglas annähernd gleich brechendes Medium zu finden. Da das Wasser eine bei weitem geringere Brechkraft als das Crownglas besitzt, so sind die später eingeführten Oelimmersionssysteme von $^1/_{12}$—$^1/_{20}$" Brennweite den entsprechenden Wasserimmersionen allemal vorzuziehen. Als dem genannten Glas an Brechkraft nahestehend werden verwandt Cedernholzöl, Fenchelöl, Ricinusöl u. s. w., es ist aber zu erwarten, dass die Technik auch hier noch Fortschritte machen wird, so dass schliesslich Substanzen zur Immersion verwandt werden, die mit dem Crownglas denselben Brechungsexponenten besitzen. Die verschiedenen Deckglasdicken können jetzt beinahe vernachlässigt werden, während sonst Correctionsschrauben an dem Systeme unumgänglich nothwendig waren. Bei der Benutzung von Oelimmersionslinsen mag noch darauf hingewiesen werden, dass, will man ein ungetrübtes System auf die Dauer behalten, sorgfältige Entfernung des Oeles nach jeder Benutzung sich nothwendig macht.

Digitized by Google

Zur bequemeren Handhabung zweier oder mehrerer Objective rasch hintereinander dient ein sogenannter „Revolverapparat", der andauerndes Mikroskopiren ausserordentlich erleichtern dürfte.

Die Anfertigung der mikroskopischen Präparate zur Untersuchung auf darin enthaltene Bacterien erfordert die vollständige Kenntniss der histologischen Technik einschliesslich der Färbemethoden. Ueber diesen Gegenstand giebt gleichfalls die voranstehende Arbeit des Herrn Dr. Huber die erforderlichen Aufschlüsse, so dass von einer Beschreibung der Färbung der Bacterien im Gewebe ganz Abstand genommen werden kann. Es bleibt daher hier nur übrig, die mikroskopische Untersuchung von in Flüssigkeiten suspendirten Mikroorganismen kurz zu besprechen. Zum Unterschiede von den Schnittpräparaten spricht man von „Trocken- oder Deckglaspräparaten", eine Bezeichnung, die denselben, weil sie auf dem Deckglas aufgebreitet und daselbst eingetrocknet werden, zugetheilt worden ist. Durch die Einführung derselben durch R. Koch ist bei orientirenden Untersuchungen auf Bacterien in Flüssigkeiten sowie in den die Schnittfläche bedeckenden Gewebssäften eine rasche Ausführung ermöglicht und in Bezug auf frische Organtheile die Anwendung der Gefriermikrotome vorläufig unnöthig gemacht worden. Dabei kommt es wesentlich darauf an, dass man das zu untersuchende flüssige Material in möglichst dünner Schicht auf dem Deckglas ausbreitet und es auf demselben dauernd haften macht, selbst wenn die Farbflüssigkeiten auf dasselbe wirken. Die früheren Erfahrungen über die Unveränderlichkeit der Bestandtheile des eingetrockneten Blutes wandte der genannte Forscher auch auf diese Untersuchungen an. Die Herstellung der Präparate geschieht in folgender Weise: die bacterienhaltige Flüssigkeit, der abgestrichene Gewebssaft, die aus in irgend welchem Nährboden gewachsenen Bacteriencolonien zu entnehmenden sehr kleinen Mengen u. s. w., werden mittelst eines in Glasstab eingeschmolzenen, vorher geglühten Platindrahtes gefasst und breit auf dem Deckglas, eventuell in einem kleinen reinen Wassertropfen, ausgestrichen unter Vermeidung der Ränder des Deckglases. So bleiben die Deckgläser liegen, bis die Massen vollständig an der Luft eingetrocknet sind. Um ein Abwaschen durch die Farbflüssigkeiten zu umgehen, hatte man die gewöhnlichen Härtungsverfahren mit Alkohol, Chromsäure u. s. w. versucht, es liess dies Verfahren nur immer insofern zu wünschen übrig, als eine sofortige Untersuchung nicht möglich war und diese Substanzen ausserdem nicht gleichmässige Wirksamkeit zeigten. Durch Ehrlich wurde dafür zur Fixirung die Erhitzung der Präparate eingeführt und die Koch'sche Schule hat nach vielen Versuchen ein entsprechendes Verfahren angewandt, das darin besteht, dass die Deckglaspräparate nach der Eintrocknung direct durch Einwirkung der Flamme zum Haften gebracht werden. Das Deckglas wird mit der Pincette, die bestrichene Fläche nach oben, gefasst und drei Mal mässig schnell durch die Flamme eines Bunsenbrenners oder einer Spirituslampe gezogen. Man erreicht dadurch ein Unlöslichwerden der im Ausstrich enthaltenen Eiweissstoffe, wodurch ein Abwaschen der Masse durch Flüssigkeiten verhindert wird. Freilich verändern manche Bacterien durch eine derartige Behandlung ihre Form, und es ist in dieser Hinsicht Aufmerksamkeit zu empfehlen. Ein mehr als drei Mal wiederholtes Durchziehen der Präparate durch die Flamme würde Veränderungen in den Eigenschaften der Bacterien bewirken, so dass z. B. die Aufnahme von Farbstoffen sich ganz anders gestalten würde, als es gewöhnlich geschieht. Vor allem scheint die Zellmembran es zu sein, von deren Beschaffenheit diese Vorgänge abhängen.

Ist das Präparat so auf dem Deckglas fixirt, dann lässt man die gleichzuerwähnenden Anilinfarblösungen einige Minuten auf das Präparat einwirken, ein Vorgang, der durch Erwärmen über einer Flamme bis zum ersten Aufsteigen von Wasserdampf abgekürzt werden kann. Es kommt auf dasselbe

Digitized by Google

hinaus, ob man die Farblösung mit einer Pipette auf das Deckglas tropft und darauf stehen oder ob man das Deckglas mit der bestrichenen Fläche nach unten auf der Farblösung in einem Uhrschälchen schwimmen lässt. Nach Verlauf einiger Minuten wird die Farbe wieder in reinem Wasser abgespült und es kann das Präparat sofort in Wasser untersucht werden. In letzterem Falle würde es sich nur um eine rasche Orientirung über den Gehalt des Präparates an Bacterien handeln können, eine Conservirung desselben ist so natürlich unmöglich: in diesem Falle bringt man einen Tropfen reinen Wassers auf den Objectträger und legt das Deckglaspräparat unter möglichster Vermeidung von Luftblasen darauf, um dann noch das überschüssige Wasser vom Rande aus mit Fliesspapier wieder zu entfernen. Will man aber das Präparat aufbewahren, so lässt man entweder dasselbe an der Luft ganz trocken werden oder entfernt das Wasser durch absoluten Alkohol und legt es in Xylolcanadabalsam ein.

Zur Bacterienfärbung benutzt man zur Zeit ausschliesslich die basischen Anilinfarben und zwar entweder als concentrirte wässrige oder als sogenannte verdünnte alkoholische Lösung. Es eignet sich hierzu besonders das Methylenblau, Rubinfuchsin, Gentianaviolett, Dahlia, Vesuvin u. s. w. Die Lösungen werden bereitet, indem der trockene Farbstoff mit Wasser oder mit absolutem Alkohol übergossen wird und so zur gesättigten Auflösung stehen bleibt. Das Filtrat stellt dann die concentrirte wässrige oder concentrirte alkoholische Lösung des Farbstoffes dar. In der ersteren Form verwendet man mit Vorliebe das Vesuvin. Die concentrirten alkoholischen Lösungen sind in der Verwendung von den sogenannten verdünnten alkoholischen Farblösungen verdrängt worden, die bestehen aus ca. 1,0—2,0 der filtrirten alkoholischen Lösung des Farbstoffes und 100,0 destillirten Wassers. So benutzt man das Fuchsin, das Methylenblau u. s. w. Sie alle haben die Eigenschaft, die Bacterien neben den Kernen intensiv zu färben.

Ebenso wie sich in Gewebsschnitten im Vergleich mit der einfachen d. h. mit einem Farbstoff bewirkten Färbung die Bacterien noch mehr verdeutlichen lassen durch die isolirten und Doppelfärbungsmethoden, so können auch in Deckglaspräparaten solche zur entsprechenden Verwendung kommen. Ueber alle diese Methoden giebt der voranstehende Artikel Aufschluss.

Mit einem Worte muss noch der Sporenfärbung, wie sie von Buchner und Hueppe beinahe gleichzeitig angegeben worden ist, gedacht werden. Die endogenen Sporen — über die Arthro- oder Gliedersporen liegen noch keine Angaben vor — nehmen im Allgemeinen bei der gewöhnlichen Färbung mit Anilinfarben die Farbstoffe nicht an, vielmehr erscheinen sie bei abgeblendetem Licht in den gefärbten Bacillen als schöne, stark glänzende runde oder ovale Körper. Buchner setzt die Präparate auf Deckglas ausgestrichen ½—1 Stunde einer Temperatur von 200° im Trockenschrank aus und Hueppe ersetzt diese langdauernde Erhitzung durch 10maliges Durchziehen durch die Flamme. Es scheint dadurch die Sporenmembran ihre Widerstandsfähigkeit gegen Farbstoffe einzubüssen, während die Bacterien selbst zerstört werden. Die Folge davon ist, dass die Sporen die Farbstoffe gut annehmen, während die Bacillen ungefärbt erscheinen. Ja selbst eine Doppelfärbung ist Hueppe gelungen nach der Methode der Tuberkelbacillenfärbung mit Fuchsin und Methylenblau: Dabei ist es aber nothwendig, dass das Präparat nach der Fixirung eine Viertelstunde in heisser Anilinfuchsinlösung gehalten wird. Alle anderen Momente der Färbung sind die gewöhnlichen, auch bei der Beschreibung der Tuberkelbacillenfärbung angegebenen. Es erscheinen dann die Sporen roth, die Bacillen meist sehr schwach blau.

So leicht zu handhaben die Methode der Deckglaspräparatenuntersuchung auch ist, so giebt sie doch nur Aufschluss über die Formen der Bacterien im

Digitized by Google

gefärbten d. i. im todten Zustande. Die moderne Bacterienforschung kann sich damit aber nicht begnügen, es gehört auch zu einer exacten Bearbeitung die genaueste Beobachtung der Bacterien im lebenden Zustande. Es hat sich sehr bald herausgestellt, dass hier die grössten Differenzen zu finden sind. Zu diesem Zwecke muss man dieselben also im ungefärbten Zustande ebenfalls untersuchen können und dies ist ermöglicht durch die Untersuchung im hängenden Tropfen. Der Tropfen kann entweder nur zur Suspendirung des Bacterienmaterials dienen, dann wird das gewöhnliche reine oder besser keimfrei gemachte Wasser genügen, oder es handelt sich darum, den Mikroorganismen gleichzeitig auch Nährmaterial zu bringen neben der Flüssigkeit, in diesem Falle würde sich sterilisirte, neutrale Bouillon am meisten empfehlen. Mit einer, wie schon beschrieben, behandelten Platinöse bringt man ein kleines Tröpfchen auf ein gut gereinigtes Deckglas und verreibt in demselben die mit der Platinnadel entnommene Bacterienmasse. Sodann wird, um eine zu rasche Verdunstung zu vermeiden, das Deckglas an seinen äussersten Rändern mit einer Masse wie Vaseline, Paraffin u. s. w. bestrichen und nun die Höhlung eines ausgeschliffenen hohlen Objectträgers so über das Deckglas gelegt, dass, wenn der Objectträger umgekehrt wird, der Tropfen auf dem anhaftenden Deckglas in die Höhlung des Objectträgers herabhängt.

Bei genügender Abblendung wird man mit den Immersionssystemen, deren Einstellung natürlich sehr vorsichtig geschehen muss, die vorhandenen Bacterien bezüglich ihrer Form, Beweglichkeit, Kettenbildung, Sporenhaltigkeit u. s. w. bald beurtheilen lernen. Hat man es mit einer Form von Mikroorganismen zu thun, wie sie z. B. vorkommen würde im Blut von frischen Milzbrandcadavern, oder, wenn die Entnahme aus einer isolirten Colonie eines Bacteriums erfolgt ist, so werden sich wenig Schwierigkeiten entgegenstellen, ganz anders aber, wenn man es mit Bacteriengemischen zu thun hat. In dem Falle muss man sehr vorsichtig mit einem Urtheil sein, da sich hier nur zu leicht Verwechselungen einschleichen können. Auf eins muss noch aufmerksam gemacht werden, das sind die Molecularbewegungen, die in Flüssigkeiten enthaltene kleine Körperchen allemal zeigen. Sie von einer Eigenbewegung der Mikroorganismen zu unterscheiden, muss nothwendigerweise durch Uebung angelernt werden.

Ebenso wichtig für die Untersuchung ist auch die Beobachtung der im festen durchsichtigen Nährboden isolirt heranwachsenden Einzelcolonie eines Bacteriums; hieraus ergeben sich mannigfache Verschiedenheiten in der Form und Art des Wachsthums, so dass der Geübtere bereits aus dieser Untersuchung sichere Anhaltspunkte gewinnen kann. Dazu benutzt man möglichst schwache Systeme und starke Blenden, es macht sich dabei das Erforderniss eines grossen Objecttisches sowie ein möglichst weiter Abstand des Objectives vom Stativ geltend. Soll nun noch die Beweglichkeit innerhalb von Einzelcolonien im durchsichtigen festen Nährboden ins Auge gefasst werden, so empfiehlt es sich, auf dieselben reine Deckgläschen unter Vermeidung von Luftblasen aufzulegen und dann die Immersionslinse zu gebrauchen. Diese Deckgläschen können dann, nachdem sie vorsichtig abgehoben worden sind, geradezu als Abklatschpräparate der darunter entwickelten Bacteriencolonien benutzt und wie Trockenpräparate behandelt werden. Das letztere kann auch mit dem am Deckglas eingetrockneten hängenden Tropfen, wie er zur Untersuchung im hohlen Objectträger zurecht gemacht worden war, vorgenommen werden.

2. Die Isolirung und Reinzüchtung der Bacterien ist nach dem mikroskopischen Nachweis derselben die wesentlichste Anforderung, die man an eine schulgerechte bacteriologische Arbeit stellen muss. Bei der allgemeinen Verbreitung der Keime ist allerdings dieser Bedingung nicht ohne weiteres zu

Digitized by Google

genügen und es hat lange Zeit erfordert, ehe man sich aus dem unendlichen Gewirr von Bacterien einzelne Arten und Formen zu isoliren gelernt hatte. Das Streben nach diesen sogenannten Reinculturen ist weit zurück zu verfolgen, und so manche Anhaltspunkte sind ja auch in früheren Arbeiten für die jetzt gebräuchlichen, von KOCH eingeführten Methoden gegeben worden. Sicher ist aber, das keine der vor Einführung der letzteren benutzten Untersuchungsarten den nothwendigerweise zu stellenden Bedingungen voll entsprochen hat.

Nicht die geringste Schwierigkeit bereitete den Bacterienzüchtungen stets die Keimhaltigkeit aller Gebrauchsgegenstände und die fortwährende Infection durch die Umgebung. Zumeist hatte man es nicht mit wenigen Formen von Bacterien zu thun, sondern sogleich mit ganzen Gemischen. Und hier war nun noch der Umstand von höchst ungünstiger Wirkung, dass die pathogenen Keime in Folge ihrer meist langsameren Entwickelung sehr bald durch die schnell und üppig wachsenden Fäulnisskeime überwuchert resp. verdrängt wurden. In den zumeist verwandten flüssigen Nährsubstanzen waren diese Vorgänge dem Aeussern nach schwer zu beurtheilen ohne mikroskopische Untersuchung. Selbst die von KLEBS eingeführte fractionirte Cultur bedeutete hier keinen weiteren Fortschritt, da auch in dem kleinen Tropfen viel andere Keime ausser dem bestimmten vorhanden waren. Anders schon gestalteten sich die Verhältnisse durch die sogenannten Verdünnungsmethoden, wie sie PASTEUR und BREFELD zur Züchtung von Pilzen und Hefen benutzten. Auf diese Weise konnte man sicher durch immer weiter gehende Verdünnungen dahin gelangen, dass man schliesslich in einem Tropfen nur einen Keim noch annehmen konnte. Um diesen auch der directen mikroskopischen Prüfung zugänglich zu machen, die ja durch die fortwährende Bewegung in der Flüssigkeit unmöglich war, versuchte es KLEBS einen Keim an einer Stelle zu fixiren durch Verwendung der leicht erstarrenden Hausenblase. Auch Gelatine wurde bereits früher verwandt von BREFELD, aber nur in der Absicht, einer schnellen Verdunstung der Nährflüssigkeiten vorzubeugen.

Auf Grund früherer und eigener Beobachtungen über die Entwickelung isolirter, leicht unterscheidbarer Bacteriencolonien auf gekochten Kartoffelscheiben, die der Luft ausgesetzt waren, verliess R. KOCH die flüssigen Nährsubstrate und nahm isolirte Züchtungen vor auf festen undurchsichtigen hauptsächlich aber auf festen durchsichtigen Nährboden, die den grossen Vortheil darboten, dass das Heranwachsen der Einzelcolonien mit blossem Auge sowohl wie auch mit schwachen Vergrösserungen übersehen und so die Trennung der einzelnen verschieden wachsenden Arten ausgeführt werden konnte. Es bedeutete diese Veränderung der Methodik einen gewaltigen Umschwung in der gesammten bacteriologischen Forschung.

Bevor aber auf die Herstellung und Verwendung der Nährsubstanzen eingegangen werden kann, müssen einige Worte vorausgeschickt werden über die nothwendige Desinfection aller Gebrauchsgegenstände und über die Vermeidung von Infectionen durch den Experimentirenden selbst.

Was den letzteren Punkt betrifft, so gelten hier die Regeln der Antisepsis in eben so peinlicher Form, wie sie die chirurgischen Operationen erfordern. Von dem Standpunkte ausgehend, dass die Umgebung stets mit entwickelungsfähigen Keimen angefüllt ist, deren Anzahl durch unvorsichtige Bewegungen noch vermehrt wird, muss man einen Raum zu den Versuchen sich auswählen, wo möglichst wenig Personen anwesend oder wenigstens nicht durch Umhergehen oder sonstige Manipulationen den keimhaltigen Staub, durch den die Luftinfection erfolgt, aufwirbeln. Alle nothwendigen Bewegungen der eignen Person sollen in aller Ruhe und nicht über oder an den zu benutzenden Material geschehen. Die Berührung des letzteren mit den stets mit Keimen behafteten Händen soll bis auf das äusserste Maass beschränkt werden, am besten

Digitized by Google

gewöhnt man sich von vornherein nur mit Pincetten, Zangen u. s. w. anzufassen; ist aber eine Berührung unumgänglich, dann müssen die Hände ganz wie vor chirurgischen Operationen mit desinficirenden Substanzen, 5% Carbolsäure, 1‰ Sublimatlösung u. s. w., desinficirt werden. Letztere Mittel müssen auch da überall verwandt werden, wo die gleich zu erwähnenden anderen sicheren Desinfectionsarten nicht zur Anwendung gelangen können, z. B. bei Herstellung der feuchten Kammern durch Einlegen von feuchten Fliesspapierstreifen in gewöhnliche Glasglocken oder Teller, Abwaschen von Glasgegenständen u. s. w.

Für die zur Verwendung kommenden Instrumente, Glassachen u. s. w. hat man in der Desinfection vermittelst des Durchglühens oder der stundenlangen Wirkung der trockenen Hitze das sicherste Verfahren zur Vernichtung der anhaftenden Keime und man spricht deshalb von einem Sterilisiren durch Hitze. Alle Metallgegenstände werden deswegen nach sorgfältiger Reinigung direct in einer nicht russenden Flamme vollständig durchglüht und dann bis zum Gebrauch vor Staub und Berührung mit keimhaltigen Gegenständen geschützt auf einer sterilen Glasplatte mit Glocke überdeckt aufbewahrt. So behandelt man alle Scheeren, Messer, Pincetten und vor allen die viel benutzten Platinnadeln, die in Glas eingeschmolzen sind.

Die Glasgegenstände, als Platten, Gläser, Objectträger, Uhr- und Krystallisationsschalen, die mit Metallfassung versehene Pravaz'sche Spritze würden diese Form des Sterilisiren nicht aushalten und es ist nöthig, dass man sich hier in anderer Weise hilft. Koch benutzte dazu die stundenlange Wirkung von heisser Luft von 150—180° C., wie sie im Innern eines sogenannten Trockenschrankes durch Heizung mit Gasflammen erzielt werden kann. Der Trockenschrank ist ein doppelwandiger Kasten aus Eisenblech und stellt ein eigentliches Luftbad dar, im Innern sind herausnehmbare, den Raum in Fächer theilende Platten zu finden, an der oberen Seite sind zwei Oeffnungen angebracht, in deren eine das Thermometer eingebracht, die andere für den Thermoregulator bestimmt ist. Die Glassachen müssen vorher einer gründlichen Reinigung mit Wasser, Alkohol, Aether unterzogen werden und bleiben, nachdem sie vollständig trocken geworden, in dem Schranke 1—2 Stunden bei der obenerwähnten Temperatur. Dabei ist noch zu erwähnen, dass alle Reagensgläser, Kolben, Flaschen u. s. w., welche zur Aufnahme von Nährsubstanzen u. s. w. bestimmt sind, nach der Reinigung mit dem als relativ pilzdicht erkannten Wattepfropf, einem Luftfilter, versehen und mitsammt demselben zur Sterilisirung gebracht werden.

Fig. 2. Trockenschrank.

Am besten lässt man nach der ein- bis zweistündigen Erhitzung die Objecte im Schranke abkühlen und entnimmt sie demselben erst, wenn man sie gebraucht oder, wenn dies nicht möglich wegen fernerweiter Benutzung, muss man sie vor erneuter Infection geschützt aufbewahren.

Die bisher beschriebenen Desinfectionsarten können aus nahe liegenden Gründen für Nährsubstanzen oder vegetabilische Stoffe nicht in Frage kommen.

Digitized by Google

Hier galt es, um eine sichere Vernichtung der vorhandenen Keime herbeizuführen, andere Methoden zu ersinnen. Die Urzeugungstheorie wurde durch Experimente von vielen Seiten zu widerlegen versucht und ganz besonders vermochten hier jene Versuche beweiskräftig zu wirken, die mit Abkochungen von Infusen organischer Massen angestellt worden waren. Die Erfahrung hatte gelehrt, dass die vorhandenen Keime durch länger andauerndes Kochen abgetödtet werden konnten und dass in den Substanzen, so lange eine directe Luftwirkung ausgeschlossen war, keine Veränderungen eintraten. Das blosse Aufkochen hingegen gewährte noch keine Sicherheit und es war schon längeres Kochen nothwendig. Man benutzte nun zum Sterilisiren von Flüssigkeiten oder festen leicht zu verändernden Substanzen den Dampfkochtopf. Derselbe leistet auch bei richtiger Construction ganz gute Dienste, zumeist sind aber sehr grosse Temperaturschwankungen in demselben wahrzunehmen, so dass man die Temperatur zwischen 110—120° C. und einen Druck von 1—2 Atmosphären vorfinden kann. Die Substanzen, welche als Nährsubstrate dienen sollen, vertragen nun wohl die Siedetemperatur von 100° ohne besondere eingreifendere Veränderungen, dagegen wird schon durch die Schwankung der Temperatur, wie sie der Dampfkochtopf zeigt und durch den erhöhten Druck zu leicht eine derartige Umwandlung der Massen hervorgerufen, dass sie sogar zur Züchtung nicht mehr benutzt werden können. Diese Unannehmlichkeit sowie die Unsicherheit der Vernichtung der Keime bei schwankender Temperatur haben Koch, Gaffky und Löffler dadurch zu umgehen versucht, dass sie nicht gespannten, sondern strömenden Heisswasserdampf von 100° C. in Anwendung brachten. Sie erzielten damit eine sichere Abtödtung aller, selbst der widerstandsfähigsten Keime, wenn die Dämpfe 1 Stunde die Substanzen umspült hatten. Es wurde ein Apparat construirt, der diesem Princip möglichst entsprechen sollte, man nennt ihn den Koch'schen „Dampfsterilisirungsapparat". In demselben musste der Dampf überall genau eine Temperatur von 100° C. zeigen und niemals durfte eine höhere Spannung der Dämpfe eintreten. Dies wurde beides dadurch erreicht, dass man ein vollständig freies Entweichen des Dampfes aus dem Apparat verhinderte und andrerseits wieder keinen hermetischen Verschluss herstellte.

Fig. 3. Dampfsterilisirungsapparat.

Der Apparat ist kurz berichtet folgendermassen construirt: Ein Blechcylinder, dessen Höhe zum Durchmesser im Verhältniss von 2:1 steht, umgeben von einem Filzmantel zur Vermeidung grösserer Wärmeverluste, ist der Hauptbestandtheil desselben. Nach unten ist er verschlossen mit einem Boden von Kupferblech, über welchem im unteren Drittel noch ein durchbrochener zweiter Boden angebracht ist. Oben bildet ein helmartiger, nicht hermetisch abschliessender, ebenfalls mit Filz umgebener Deckel den Abschluss; derselbe läuft in eine Spitze aus, die in einer Oeffnung einen Thermometer trägt. In der Umgebung des oberen Randes des Cylinders sieht man noch einige Haken zum Aufhängen von Gegenständen angebracht. An der Aussenseite ist noch ein Wasserstandsanzeiger mit Abflusshahn vorhanden. Der Cylinder selbst steht auf einem eisernen Dreifuss und wird geheizt mit Gasbrennern, deren Anzahl je nach den Dimensionen sich vermehren oder vermindern muss.

Die Verwendung des Dampfsterilisirungscylinders geschieht in der Weise,

Digitized by Google

dass man den Raum zwischen dem unteren und oberen Boden nicht ganz mit Wasser anfüllt (2/3 des Raumes) und dann bis zum Sieden anheizt. Bei dem gewöhnlichen Luftdruck zeigt das Wasser in dem Apparat die Siedetemperatur und zwar an allen Stellen gleichmässig. Ein Uebersteigen der genannten Temperatur, sowie eine Druckvermehrung ist durch das fortwährende Entweichen von Wasserdampf unmöglich gemacht. Ist die Temperatur erreicht, dann werden die Objecte in Kesseln, die den Dimensionen des Cylinders angepasst sind, oder die Flüssigkeiten in Glaskolben oder Gläsern mit Watteverschluss herein gebracht. Der Heisswasserdampf umströmt nun von allen Seiten die Objecte, ohne dass das wallende Wasser sie direct berühren könnte. So verbleiben sie eine volle Stunde, ein Zeitraum, der nach den Versuchen von Koch, Gaffky und Löffler genügt, alles Bacterienmaterial, selbst widerstandsfähige Sporen abzutödten. Haben die Apparate grössere Dimensionen, so müssen zur Erzielung der nöthigen Temperaturhöhe statt Wasser Kochsalzlösungen in Anwendung gebracht werden.

Die Leichtigkeit der Herstellung, sowie die Billigkeit bei der sicheren Leistungsfähigkeit verleihen dem Dampfsterilisirungscylinder vor allen anderen Dampfkochapparaten den Vorrang.

Während man in der ersten Zeit nach Einführung dieses Cylinders den Dampf eine volle Stunde hindurch auf alle Objecte einwirken liess, hat man nach und nach die Erfahrung gemacht, dass längerer Einfluss einer Temperatur von 100° auf gewisse Nährsubstanzen doch Veränderungen in ihren Zusammensetzungen, die einer günstigen Entwickelung von Bacterienkolonien hinderlich werden könnten, hervorzubringen im Stande ist. Man ist deshalb von dem längeren einmaligen auf öfteres kurz dauerndes Sterilisiren übergegangen und spricht von einem discontinuirlichen Sterilisiren. Es hat sich gezeigt, dass 3—4 Tage hintereinander vorgenommene einviertelstündige Wirkung des Dampfes von 100° C. auch zur Vernichtung aller entwickelungsfähigen Keime genügt, ohne dass Zersetzungen irgend welcher Art eintreten könnten.

Nun kommt aber noch hinzu, dass bestimmte Substanzen, unter ihnen besonders das Blutserum, bereits bei Temperaturen von ca. 75° C. zu einer undurchsichtigen, festen Masse gerinnen. Hier war diese Sterilisirung mit strömenden Heisswasserdämpfen von 100° nicht anwendbar. Nach früheren Untersuchungen von F. Cohn war bekannt, dass die ausgewachsenen Bacterien schon bei Temperaturen unterhalb der Eiweissgerinnung absterben, dagegen die Sporen dabei auskeimen. Im Stadium des Auskeimens sind aber die Bacterien, nach demselben Forscher, wenig widerstandsfähig gegen äussere Einflüsse und können leicht vernichtet werden. Wenn nun Temperaturen unter 60° C., gewöhnlich 57 und 58°, 7—8 Tage, allemal 1 Stunde lang, einwirken auf die in der zu sterilisirenden Nährsubstanz enthaltenen Bacterien, so wird es sich herausstellen, dass am ersten Tage die ausgebildeten Bacterien dabei zu Grunde gehen, die Dauersporen aber auskeimen. Am nächsten Tage sind die neuentstandenen Bacterien durch die wiederholte Einwirkung ebenfalls vernichtet und die noch vorhandenen Sporen entwickeln sich zu Bacterien. Nach und nach werden sämmtliche Bacterien abgetödtet und keimungsfähige Sporen nicht mehr vorhanden sein, dieser Zeitpunkt ist am 7. oder 8. Tage erreicht.

Koch verwerthete diese Erfahrungen und construirte zur discontinuirlichen Sterilisirung mit niederen Temperaturen einen Apparat, dessen Zusammensetzung die nachstehende ist. Ein aus Kupferblech bestehender niedriger Doppelcylinder, abgeschlossen durch einen hohlen Deckel mit hohlem Ansatz, stellt ein Luftbad dar, dessen Temperatur durch den umgebenden Wassermantel regulirt wird. Das zwischen den Wandungen des Cylinders befindliche Wasser wird durch eine Flamme unter dem Boden desselben,

Digitized by Google

das im Hohlraum des Deckels durch eine solche unter dem communicirenden Ansatz erwärmt. Die äussere Umgebung des Cylinders, sowie die Oberfläche des Deckels sind noch von einer Filz- oder Asbestschicht umgeben und an der Seite des Cylinders ist noch ein Wasserstandsanzeiger mit Abflusshahn angebracht. Im Deckel befinden sich drei Oeffnungen zur Aufnahme von Thermometern, das eine zeigt die Wärme des Wassers im Deckel, das zweite die des Wassers zwischen den Wandungen des Cylinders und das dritte die des gebildeten inneren Luftraumes an. Zur Regulirung der Temperatur dient am besten ein Thermoregulator. An Stelle des erst bei 100° C. siedenden Wassers kann man auch zur Füllung Substanzen verwenden, deren Siedepunkt niedriger und in der Nähe der zu verwendenden Temperatur gelegen ist, z. B. Chloroform, Benzin u. s. w. Die zu sterilisirenden Objecte werden dem Luftraum des Cylinders übergeben und 8 Tage bei einer Temperatur von 57—58° C. jedesmal eine Stunde lang gehalten.

Fig. 4. Apparat zum Sterilisiren von Blutserum.

Will man eine flüssige Masse nicht durch Anwendung höherer Temperaturgrade von den vorhandenen Keimen befreien, so kann man hierzu auch noch die Methode der Filtration durch für Bacterien undurchlässige Filter benutzen. Nach dem Vorgang von Helmholtz haben Tiegel und Klebs und nach ihnen Pasteur zu diesem Zwecke Filter aus Thon, Gyps, Porzellan, Kohle u. s. w. mit gutem Erfolg versucht.

Auch sei noch darauf hingewiesen, dass manche Substanzen, zu denen Bacterienkeime sicher keinen Zutritt hatten, ohne jede künstliche Zubereitung direct zur Züchtung von Bacterien sich geeignet erweisen, das gilt ganz besonders von Exsudaten der Pleurahöhle, Hydrocelenflüssigkeit u. s. w. Es muss aber dann bei der Entnahme die grösste Subtilität und Reinlichkeit obwalten.

Die Befreiung der zu brauchenden Nährsubstanzen, Instrumente, Gefässe u. s. w. von anhaftenden Keimen, sowie die möglichste Vermeidung von Luftinfection, Verunreinigung durch die eigenen Hände u. s. w. sind die nothwendigen Vorbedingungen für eine erfolgreiche Bacteriencultivirung, wie sie im Nachstehenden behandelt werden soll. Dieselbe lässt sich in zwei Vornahmen trennen, in die Isolirung einer bestimmten Bacterienart und in deren isolirte Weiterzüchtung. Den bei weitem schwierigeren Theil der Arbeit fasst die Isolirung in sich. Koch forderte zuerst, nachdem es früher nicht unbedingt eingehalten worden war, unumstösslich für jede Bacterienzüchtung den Ausgang von einem Keime. Dies ist nun in den flüssigen Nährsubstanzen schon sehr schwer zu erreichen, da man trotz Verdünnung und grösster Subtilität keinen äusseren Anhalt für die wirkliche Entwickelung einer Cultur aus einer und derselben Bacterienform besitzt. Zur isolirten Entwickelung von Bacteriencolonien bieten aber die festen und besonders die durchsichtigen Nährmaterialien den Schlüssel. Zumeist handelt es sich ja zuerst um eine Isolirung einer bestimmten Bacterienform von anderen ebenfalls vorhandenen Keimen: in diesem Falle dienen die sogenannten Platten- und Objectträgerculturen in den meisten Fällen zur Erzielung des Einzelwachsthums. Aus den isolirten Colonien kann man dann, vorausgesetzt, dass sie auch wirklich

Digitized by Google

nur aus einer Bacterienart bestehen, in Stich- und Strichculturen weitere Fortzüchtungen als Reinculturen vornehmen. Es ist hier aber auch der zwar seltenen Möglichkeit zu gedenken, wo ein Material sicher nur eine Form von Bacterien enthält: ist dies mikroskopisch sicher nachgewiesen, dann braucht man nicht anzustehen, direct aus dem Blute, Eiter u. s. w. Reinculturen in der letztgenannten Form anzulegen. Es würde nur dabei nicht ausser Acht zu lassen sein, dass die ersten Generationen noch Beimischungen von Gewebselementen, Blutkörperchen u. s. w. aufweisen würden. Diese gehen aber nach und nach zu Grunde und bei weiteren Uebertragungen würden sich in den 4., 5., 6. Generationen dieselben bereits mit Sicherheit ausschliessen lassen. Im grossen ganzen beruhen die Vortheile der festen Nährsubstrate gegenüber den flüssigen darin, dass man in den Stand gesetzt ist, durch äussere charakteristische Kennzeichen verschiedenen Formen von Bacterien angehörige Colonien scheiden zu können und wiederum der Vorzug der festen durchsichtigen Nährsubstanzen vor den undurchsichtigen ist gegeben in der ermöglichten mikroskopischen Controle der heranwachsenden Culturen.

Zur Trennung der verschiedenen Bacterienkeime vermittelst der Platten- oder Objectträgerculturen kommt die sogenannte „Fleischwasserpeptongelatine“ in ausgedehntem Maasse zur Verwendung. Man kann die von Löffler angegebene Nährgelatine annähernd als einen universellen Nährboden für Bacterienzüchtungen bezeichnen. Als ein allgemein anwendbares Nährmaterial ist sie deswegen nicht hinzustellen, weil einzelne Bacterienformen auf oder in ihr nicht zum Wachsen zu bringen sind. Für die meisten bekannten Bacterien liefert sie aber eine zur Entwicklung geeignete Masse. Auch kann man durch mancherlei Zusatz anderer Substanzen, besonders Zucker, Blutserum u. s. w. ihre Zusammensetzung nach Bedürfniss verändern.

Die gewöhnlich zur Verwendung gelangende Nährgelatine wird hergestellt aus Fleischwasser resp. Bouillon, Gelatine, Pepton und Kochsalz. Es wird in einem reinen Kolben 1 kg fein gehacktes rohes, von Fett und Sehnen befreites Rindfleisch mit 2 l reinem hellen Wasser übergossen und 24 Stunden zur Maceration in der Kälte stehen gelassen, während der Kolben mit einem Wattepfropf verschlossen ist. Oder es wird die ganze Masse im Kolben 1 Stunde lang gekocht. Die abfiltrirte Flüssigkeit, welche im ersten Falle eine röthliche Farbe, im letzteren die der Bouillon besitzt, wird je nachdem zu 1, 2, 3 l durch Wasserzusatz ergänzt. Von einer gewöhnlichen, im Handel vorkommenden Gelatine wird 2½—10 % der Flüssigkeit möglichst klein vertheilt zugesetzt, von dem officinellen peptonum siccum depuratum werden 1 % und von reinem Kochsalz 0,3—0,6 % gebraucht. Durch Kochen im Wasserbad wird die ganze Masse im Glaskolben zur Lösung gebracht und dann mit kohlensaurem oder phosphorsaurem Natron genau neutralisirt, sodass entweder amphotere oder eine Spur von alkalischer Reaction zu bemerken ist. Zu diesem Zweck bereitet man sich am besten eine 1—2 % Lösung der obengenannten Substanzen und setzt mittelst reiner Pipetten von derselben zu. Darnach kocht man die ganze Masse im Wasserbad ½—1 Stunde, es resultirt eine ganz undurchsichtige graue bis graubraune Substanz, die bei gewöhnlicher Temperatur fest gerinnt. Will man dieselbe nun filtriren, so muss man, um der Gerinnung vorzubeugen, in einem sogenannten Heisswassertrichter filtriren, einem Apparat, welcher aus einem doppelwandigen Kupfertrichter besteht und einen seitlichen hohlen, mit dem Raum zwischen den Wänden des Trichters communicirenden Ansatz besitzt. Der Hohlraum wird durch eine Oeffnung am oberen Rande des Trichters mit Wasser angefüllt und die Temperatur desselben durch eine Flamme unter dem seitlichen Ansatz auf ca. 30° C. gebracht und während des Filtrirens so erhalten. Der Kupfertrichter nimmt einen Glastrichter mit Filter aus Fliesspapier, Flanell, Lama, Watte u. s. w. auf. Durch die Filtra-

Digitized by Google

tion scheidet sich vom graubraunen Rückstand ein schönes, durchsichtiges hellgelbes Filtrat ab, das in vorher mit Watteverschluss sterilisirten Glaskolben oder Reagensgläsern, deren jedes ungefähr 10 ccm bekommt, aufgefangen wird. Die sterilen Wattepfropfen werden sofort wieder aufgesetzt. Im Glaskolben oder in den Reagensgläsern erfolgt nun die Sterilisirung der Gelatine in der Weise, dass man 3 bis 4 Tage nach einander eine Viertelstunde im Heisswasserdampfapparat bei 100° sterilisirt. Dabei wendet man für die Reagensgläser am zweckmässigsten aus Drahtgeflecht hergestellte Körbe an. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur erstarrt dann in Reagensgläsern die Gelatine wieder zu einer klaren durchsichtigen Masse und kann so längere Zeit bei Watteverschluss ohne wesentliche Veränderungen aufbewahrt werden. Nur nach längerem Stehen macht sich ein nochmaliges Aufkochen vor dem Gebrauche nöthig.

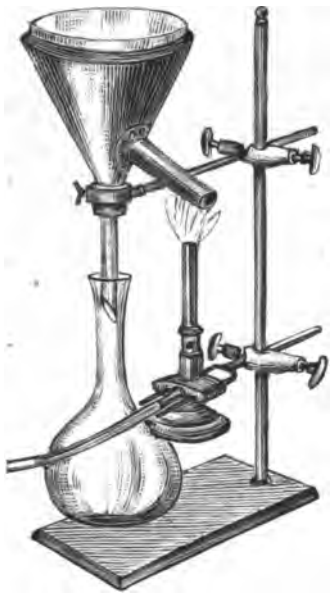


Fig. 5. Heisswassertrichter.

Da die so zubereitete neutrale Gelatine für die meisten Bacterien einen geeigneten Nährboden darstellt, so benutzt man dieselbe zur Trennung der in einem zu untersuchenden Material vorhandenen Keime, indem man jeden allein umgeben von Nährsubstanz fixirt und zur Entwickelung gelangen lässt. Hierzu dient am besten die Methode der sogenannten „Plattencultur" (s. Taf. Fig. 38). Aus gewöhnlichem Glas werden viereckige Platten geschnitten und dieselben nach gründlicher Reinigung mit Wasser, Alkohol, Aether in einer Blechkapsel, die der Grösse der Platten entspricht, im Trockenofen eine Stunde bei 150—180° C. sterilisirt. Diese sterilen Platten werden kurz vor dem Gebrauch der Kapsel entnommen und mit geglühter Pincette gefasst, auf eine ganz plane Unterlage gebracht. Als letztere ist natürlich jeder vollkommen horizontal stehende Tisch zu benutzen, besser freilich erreicht man dasselbe, wenn man sogenannte Nivellirständer in Anwendung bringt. Diese Apparate sind sehr einfacher Natur und bestehen aus mit Stellschrauben als Füssen versehenen Holzdreiecken, auf welche eine Glasschale, die mit Wasser oder Eiswasser gefüllt wird, mit einer Glasplatte bedeckt gestellt wird. Auf die letztere legt man die sterile Glasplatte auf und bedeckt sie bis zur Benutzung zum Schutz vor Staub mit einer Glasglocke.

Die Gelatine ist währenddem im Wasserbad bei 30° C. im Reagensglas wieder flüssig gemacht worden. Von dem zu untersuchenden Material wird nun mit einer geglühten Platindrahtöse oder Messer eine Spur entnommen und der Gelatine durch Hin- und Herbewegen des Instrumentes beigemischt. Wenn die Vermuthung nahe gelegt ist, dass in dem kleinem Tröpfchen noch sehr grosse Mengen von Bacterien enthalten sind, so thut man gut, Verdünnungen in der Weise zu schaffen, dass man aus dem ersten Glas (Original) ein zweites mit einer Spur der Gelatine inficirt und so eine erste Verdünnung anlegt. Aus dem zweiten kann ein drittes, aus diesem ein viertes u. s. w. beschickt werden, so dass man zweite, dritte, vierte u. s. w. Verdünnnng bekommt. Nach gründlichem Vermischen im Glas durch langsames Heben und Senken, wobei die sterile Watte ohne Schaden von der flüssigen Gelatine berührt werden kann, erfolgt die Auftragung der Gelatine auf die Glasplatte unter möglichster Vermeidung von Luftblasen, die das Untersuchungsresultat später zu beeinträchti-

Digitized by Google

gen im Stande sind; mit einem gut ausgeglühten und wieder erkalteten Glasstab vertheilt man die Gelatine über eine gewisse Fläche der Platte, wobei die Grösse des zur Verfügung stehenden Objecttisches im Auge behalten werden muss, damit man bei der mikroskopischen Durchmusterung wenn möglich alle Stellen der Platte zu untersuchen im Stande ist. Die Gelatine wird auf der Platte durch das darunter befindliche kalte oder Eiswasser rasch wieder erstarren, so dass die durch das Vermengen vertheilten Keime an bestimmten Stellen fixirt werden; während dieser Zeit hält man die Platten mit Glasglocken bedeckt. Die Aufbewahrung der Platte muss in einer sogenannten feuchten Kammer erfolgen, wenn nicht die Gelatine vollständig eintrocknen und so eine Entwickelung unmöglich werden soll. Dazu verwendet man gewöhnliche Käseglocken oder mit den Hohlseiten einander zugekehrte Teller, die zur Erhaltung der Feuchtigkeit mit in Wasser oder Sublimatlösung (1 %) getauchtem Fliesspapier ausgelegt worden sind. Wenn viel solche Platten gleichzeitig aufbewahrt werden müssen, so wird man nicht für jede einzelne eine Glasglocke benutzen, sondern durch passende gut gereinigte Glasbänkchen eine ganze Serie über einander aufschichten können in derselben Glocke.

Nach Verlauf von zwei bis drei Mal 24 Stunden wird sich in der Gelatine, vorausgesetzt, dass die umgebende Temperatur sich in den gewöhnlichen Grenzen bewegte, eine Entwickelung von Einzelcolonien um den fixirten Keim wahrnehmen lassen. Die ersten Stadien der Entwickelung, wo man mit schwachen Systemen noch die einzelnen Colonien genau von den anderen trennen kann, sind für weitere Untersuchungen die günstigsten. Hier kann man im Wachsthum der verschiedenen Bacterien mannigfache Differenzen entdecken, die zu einer Trennung der einzelnen Formen schon benutzt werden müssen. Ganz wesentlich ist es ja zu wissen, ob eine bestimmte Bacterienart das Nährsubstrat zu verflüssigen im Stande ist oder nicht, ob Farbstoffablagerungen eintreten oder farblose Colonien sich bilden, ob hauptsächlich Oberflächenwachsthum oder mehr Entwickelung im Innern der Gelatine vor sich geht u. s. w. Kurz es ergeben sich hieraus für jede Form bestimmte charakteristische Zeichen bei der Entwickelung.

Hat man es dahin gebracht, dass in der Gelatineplatte ein bestimmtes Bacterium zu charakteristischen Einzelcolonien von anderen sicher getrennt herangewachsen ist, so ist es nothwendig, um es von anderen isolirt zu halten, dass man, wenn nöthig, unter Führung des Mikroskopes wieder mit geglühter Platinnadel entnimmt, in flüssige Gelatine die Spur einträgt und so von neuem Plattencultur schafft, in der dann in der Hauptsache nur gleichartige Colonien desselben Bacteriums entstehen werden. Für diesen Fall, wo man annähernd schon reines Ausgangsmaterial besitzt, sind zur weiteren und vollständigen Trennung sehr gut zu gebrauchen die sogenannte Objectträgercultur en (s. Taf. Fig. 37). Es sind dies Gelatineculturen, die auf gewöhnlichen Objectträgern angelegt werden, indem auf letztere, welche nach gründlicher Reinigung in einem mit Watte verschlossenen Becherglas in der Trockenhitze sterilisirt worden sind, die flüssige unvermischte Gelatine vermittelst sterilisirter Glaspipetten in einige Millimeter dicken Streifen aufgetragen wird. Es geschieht dies ebenfalls am bequemsten auf dem erwähnten Nivellirständer. Die Beschickung dieser Culturen erfolgt erst nach dem vollständigen Erstarren der Gelatine in der Form von Strichen, die man mit der desinficirten Platinnadel, welche mit dem zu verimpfenden Material in Berührung gebracht worden war, durch den Gelatinestreifen in der Längs- oder Querrichtung führt. Zur Entwickelung der Culturen bewahrt man die geimpften Objectträger ebenfalls auf Glasbänkchen in feuchter Kammer auf. Dem Impfstrich entlang werden sich massenhafte, den einzelnen Keimen entsprechende Colonien entwickeln, die makroskopisch zu einem ganz gleichmässigen Streifen zusammenfliessen, der

Digitized by Google

je nach der Art des Bacteriums flüssige oder feste Gestalt annimmt. Es ist klar, dass hier eine Trennung der einzelnen Colonien bei weitem nicht so leicht vorgenommen werden kann, als in den Platten, aber immerhin gewährt auch diese Form der Cultur den grossen Vortheil, bei der Trennung das Mikroskop in ausgedehnter Form zur Verwendung bringen zu können. Man kann die Impfung in Strichform natürlich auch bei den Gelatineplatten vornehmen, wo es sich dann um dieselben Verhältnisse, nur in grösserem Maassstabe wie bei den Objectträgern handeln würde. Kurz zusammengefasst beruht der Vorzug der Platten darin, dass man verhältnissmässig wenig Material auf eine grosse Fläche vertheilen kann, während man bei den Objectträgerculturen verhältnissmässig viel Material auf einen kleinen Raum zusammendrängt.

Es kommt aber ferner auch darauf an, dass man diese Methoden möglichst allgemein zur Verwendung bringen kann und sie nicht nur bestimmten Untersuchungsarten anpassen muss. Das ist speciell bei der Plattencultur möglich, denn nicht nur für keimhaltige flüssige Substanzen gewährt sie die Möglichkeit der Untersuchung, sondern auch für feste Massen, ja selbst für Luft ist sie verwendbar. So kann man den Erdboden durch feines Aussäen seiner Theilchen auf die Gelatineplatten auf seine Keimhaltigkeit prüfen, desgleichen auch die Luft, wenn man nur dafür sorgt, dass dieselbe ungehindert über die Nährmasse hinstreichen kann. Die letzte Form der Untersuchung wird allerdings zweckmässiger mit dem Koch'schen oder Hesse'schen Luftuntersuchungsapparat vorgenommen; darüber muss auf die entsprechenden Abhandlungen verwiesen werden.

Nachdem auf die eben geschilderte Weise eine Isolirung und Trennung der verschiedenen Bacterien stattgefunden hat, kann man von den isolirten Colonien ausgehend fortgesetzte Reinzüchtungen in vielen Generationen nach einander vornehmen. Zu diesem Zwecke eignen sich am besten die sogenannten „Stich- und Strichculturen" im Reagensglas. Aus den Colonien wird mit der vorher geglühten Platinnadel eine kleine Menge entnommen und unter möglichster Vermeidung einer Berührung von keimhaltigen Theilen in die im Reagensglas erstarrte Gelatine eingestochen. Dabei muss das Reagensglas, um ein Einfallen von Keimen aus der Luft möglichst zu verhindern, mit der Oeffnung nach unten und der Wattepfropf währenddem zwischen die Finger geklemmt gehalten werden, damit nicht Verunreinigungen von keimhaltigen Unterlagen beim Aufsetzen des Pfropfens in das Glas eingebracht werden. Entlang dem Einstich hat sich ein Stichkanal gebildet, an dessen Wänden das Bacterienmaterial vertheilt worden ist und nur dort zur Entfaltung von Einzelcolonien, die dem blossen Auge als zusammenhängende Streifen erscheinen, gelangt. Vermittelst der Stichculturen in Gelatine ist man in die Lage versetzt, die grössten Wachsthumsverschiedenheiten der einzelnen Bacterienarten zu constatiren, so sieht man, dass die eine Art die Gelatine verflüssigt, die andere nicht, diese unter Verflüssigung Farbstoff am Boden ablagert, die andere in der Flüssigkeitsschicht einen Nebel bildet, diese in Gestalt von gleichmässigen Streifen im Innern, die andere in Form von aneinandergereihten fettig glänzenden Kugelcolonien wächst, diese in Form von feinpunktirten Streifen, jene in der Gestalt einer baumartigen Verzweigung sich entwickelt u. s. f. Kurz diese Reinculturen in Gelatine geben uns viele Mittel zur Unterscheidung an die Hand. Um aber die Culturen wuchskräftig zu erhalten, macht sich die Unterbringung derselben in einem möglichst immer gleichtemperirten Raum nöthig, auch ist der rechte Zeitpunkt, wo die Culturen das Nährmaterial aufgebraucht haben, genau im Auge zu behalten, damit die Umzüchtungen rechtzeitig vorgenommen werden. Allgemein empfiehlt es sich bei höheren Aussentemperaturen, den Procentsatz der zuzusetzenden Gelatine zu erhöhen, im andern Falle zu vermindern.

Digitized by Google

Vermuthet man anärobiotische d. h. nur bei Ausschluss von Sauerstoff sich entwickelnde Bacterien in dem zu untersuchenden Material, so kann man sich in der Weise helfen, dass man die directe Wirkung des Sauerstoffes bei Platten- und Objectträgerculturen durch Auflegen von sterilen Glimmerplatten, bei Reagensglasculturen durch Aufgiessen von sterilen indifferenten Flüssigkeiten z. B. Olivenöl u. s. w. ausschliesst.

Für die meisten Bacterien eignet sich die Gelatine als Nährmaterial, indess würde man nicht anstehen dürfen ihr eine andere Zusammensetzung zu geben, wenn die Annahme berechtigt erscheint, dass irgend welche Bacterien nicht im Stande sind in ihr lebensfähig zu bleiben oder überhaupt sich zu entwickeln. Es ist im allgemeinen bei Experimenten mit noch unbekannten Mikroorganismen geboten, die grösstmögliche Variabilität in der Zusammensetzung der Nährstoffe walten zu lassen. So kann, um nur einige Beispiele zu geben, an Stelle des Fleischaufgusses ein Infus aus Heu, Weizen, Althee, Pflaumen, Pferdemist u. s. w. treten, je nachdem die betreffende Bacterienart das eine oder das andere bevorzugt.

Die Erfahrung hat aber weiter gelehrt, dass es viele Bacterien giebt, die bei der gewöhnlichen Zimmertemperatur nicht zur Entwickelung gelangen, vielmehr Temperaturen erfordern, die denen des thierischen oder menschlichen Körpers entsprechen. Künstlich kann man dauernd derartige Temperaturgrade erhalten, wenn man die Thermostaten benutzt und zur sicheren Erhaltung der Temperatur Thermoregulatoren anbringt. Solche Apparate giebt es ja in genügender Menge, am meisten zu empfehlen ist der Thermostat von d'Arsonval, Paris, jedoch ist auch jeder Brutkasten, dem das in dem Zwischenraum der Doppelwände kreisende Wasser die Temperatur verleiht, anwendbar. Nothwendig ist aber zur guten Entwickelung der Culturen, dass man im Innern der Brutkästen für eine Feuchtigkeitsquelle in Gestalt von Wassergefässen sorgt.

Bei Temperaturen, die über 20° C. liegen, ist aber die Nährgelatine nicht in flüssigem Zustande zu erhalten, da sie dann schmilzt. Für Züchtungen bei Körpertemperatur ist dieselbe in Folge dessen ungeeignet, da in der flüssigen Gelatine alle bekannten Charakteristica der einzelnen Formen verloren gehen. Man hat nun in einem anderen Stoffe Ersatz für diese Fälle gefunden, es ist dies die als Agar-Agar im Handel vorkommende Algenmasse, bestehend aus einer künstlich aus Wasserpflanzen der süd- und ostasiatischen Gewässer bereiteten Gallerte. Von dieser ausserordentlich zähen, graugelb erscheinenden Masse wird eine der Gelatine entsprechende Nährsubstanz hergestellt und dann kurz als Agar-Agar bezeichnet. An Stelle der Gelatine benutzt man aber nur 1% Agar-Agar, weil bei grösserem Zusatz die Masse beim Filtriren vollständig erstarrt. Es resultirt eine der Nährgelatine sehr ähnliche gelbliche Substanz, die aber erst bei einer Temperatur von 40° C. und darüber anfängt zu schmelzen, so dass sie ganz vortrefflich zur Benutzung von Züchtungen bei Körpertemperatur sich eignet. Die Herstellungsweise dieses Nährsubstrates ist ganz die der Gelatine, nur empfiehlt es sich, die Filtration gleich im Heisswasserdampfapparat vorzunehmen und als Filter Watte zu benutzen. Das Arbeiten mit Agar-Agar als Culturboden ist um deswillen ausserordentlich bequem, als kein Bacterium bis jetzt bekannt ist, das diesen Nährboden zu verflüssigen im Stande ist. Während nun die Gelatine von sehr vielen Formen der Bacterien rapid verflüssigt wird, was sich ganz besonders bei der Isolirung aus Gemischen unangenehm geltend macht, entwickeln sich im Agar-Agar alle Colonien aus den vorhandenen Keimen zu deutlich unterscheidbaren kugelförmigen, ovalen, wetzsteinartigen u. s. w. Gebilden ohne Verflüssigung der Umgebung. Im Uebrigen aber geht auch hier die Pigment-, Gasbildung, das Wachsthum in den verschiedenen Formen vor sich. Auf der anderen Seite ist aber die Herstellung von Agar-Agar-Plattenculturen nicht so leicht ausführbar als die der

Digitized by Google

Gelatineplatten, weil man immer bei einer Temperatur von 40° C. und darüber das Ausgiessen vornehmen muss. Bedenkt man nun, dass eine derartige Temperatur für viele Bacterien entwicklungshemmend oder gar vernichtend wirkt, so muss man allerdings zugestehen, dass das Agar-Agar einen vollen Ersatz für die Gelatine nicht bieten kann, trotzdem dass eine Züchtung bei Körpertemperatur ermöglicht und eine Verflüssigung der ganzen Masse ausgeschlossen ist.

Was die Anlegung der Agar-Agar-Platten betrifft, so wird man, wie es sich aus dem vorher Gesagten ergiebt, das Agar-Agar im Reagensglas bei 42° C. flüssig machen und die Beschickung wie bei der Gelatine vornehmen, resp. die Verdünnungen herstellen. Das Ausgiessen muss aber sehr rasch geschehen, damit nicht vorher bereits wieder Gerinnung eintritt. Im letzteren Falle hat dann die ganze Platte ein runzeliges Aussehen, ein Umstand, der die mikroskopische Durchmusterung sehr stören kann. Ist ein Material aber nur wenig keimhaltig, so wird man von einer Vermischung der heissen Agar-Agar-Masse am besten absehen und die Platten in der Art der Objectträgerculturen impfen, d. h. durch Einritzen der Länge oder Quere nach mit einer zum Häkchen gebogenen, vorher in die zu untersuchende Masse eingetauchten Platinnadel. Die Entwicklung der Keime geht dann längs des Stiches vor sich. Die Platten werden in feuchten Kammern aufbewahrt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur oder im Brutkasten.

An Stelle der schwer aus Agar-Agar herzustellenden Objectträgerculturen, sowie einigermassen als Ersatz für die Platten kann man auch Cultivirungen vornehmen in kleinen Glasschälchen, deren unteres von einem grösseren oberen überdeckt wird. In das untere giesst man, nachdem natürlich heisse Luft auf dieselbe zur Desinfection eingewirkt hatte, das flüssige Agar-Agar aus und lässt es so erstarren. Die Beschickung geschieht nach den vorher angegebenen Prinzipien. Eine mikroskopische Prüfung wird nur dann ermöglicht sein können, wenn man Glasschälchen mit annähernd gleichgeschliffenem Boden benutzt hat. Für Untersuchungen von wenig bacterienhaltigen Substanzen eignet sich diese Methode sehr gut. Bei Brutofenwirkung ist aber auch darauf zu achten, dass die nöthige Feuchtigkeit vorhanden ist.

Die Culturen in oder auf Agar-Agar im Reagensglas können, wie bei der Gelatine beschrieben, hergestellt werden als Stichculturen; auch in diesem Nährsubstrat werden sich mannigfache Differenzen im Wachsthum ergeben. Es bietet aber noch eine andere Form der Cultivirung grössere Vortheile, weil man den heranwachsenden Culturen damit eine grössere Fläche zu ihrer Ausbrütung bieten kann.

Zu diesem Behufe wird die sterilisirte, noch flüssige Masse im Reagensglas mit schräger Oberfläche erstarren gelassen. Dies erreicht man, wenn man die Gläser zur Ebene geneigt bei gewöhnlicher Temperatur stehen lässt, am zweckmässigsten in dem bei Herstellung der Blutserums zu besprechenden Apparat, der in diesem Falle natürlich nicht erwärmt werden darf. Auf die so entstandene schräge Fläche trägt man mittelst der zum Häkchen gekrümmten Platinnadel nach gehöriger Desinfection derselben die zu verimpfende Masse durch Einritzen oder unregelmässiges Streichen auf. Das am Boden sich ansammelnde Condensationswasser ist gleichfalls steril und braucht eine Berührung desselben mit der Impffläche nicht gefürchtet werden, es ist aber um deswillen zu vermeiden, als viele oberflächlich wachsende Culturen zu leicht abgespült werden.

Von diesen beiden bis jetzt erwähnten durchsichtigen festen Nährboden wird auch zur Züchtung eine Combination hergestellt in der Weise, dass man der übrigen Nährlösung 1% Agar-Agar und 2% Gelatine zusetzt und sie zu Stich- oder Strichculturen benutzt. Auch dieses Gemisch wird durch Temperaturen bis zu 40°, sowie durch Bacterienentwicklung nicht verflüssigt und

Digitized by Google

dient recht gut zur Aufbewahrung und Versendung von Culturen bei höheren Aussentemperaturen.

Unentbehrlich zur Züchtung bestimmter Bacterienarten ist eine dem thierischen Körper selbst entnommene Substanz, das Blutserum. Seine Herrichtung für diesen Zweck weicht vermöge seiner besonderen Eigenthümlichkeiten von der sonstigen ganz wesentlich ab. Es wird das Blut von Rindern oder Hammeln am meisten benutzt und zwar fängt man dasselbe direct beim Stechen des Thieres in hohen mit Glasstopfen versehenen, im Heisswasserdampf sterilisirten Cylindern auf. Alsdann lässt man die Cylinder ruhig in der Kälte stehen, um die Trennung des Serums vom Blutkuchen zu erreichen. Die schöne bernsteingelbe flüssige Masse wird dann mit geglühten Pipetten vorsichtig abgehoben und in sterilisirte, mit Wattepfropfen versehene Reagensgläser gebracht. Alle Beimengungen von Blutkörperchen bewirken eine Trübung und Undurchsichtigkeit des Serums, weshalb der Blutkuchen weder durch Erschütterungen noch durch Anstossen zerstört werden darf. Es folgt nun die Sterilisirung der Masse in der discontinuirlichen Form, wie sie oben beschrieben worden ist, und zwar lässt man eine Temperatur von 52—57 ° C. 7—8 Tage hintereinander, jedes Mal eine halbe Stunde lang, auf die Substanz einwirken. Ueber die allmähliche Vernichtung der darin befindlichen Keime muss auf die obigen Auseinandersetzungen verwiesen werden, jedenfalls ist dieselbe erfahrungsgemäss nach dem genannten Zeitraum eingetreten. Dabei ist das Blutserum vollkommen durchsichtig und flüssig geblieben. Um nun den Vortheil des festen durchsichtigen Nährbodens auch hier zu besitzen, werden dann die Reagensgläser in einen Apparat gebracht, der aus einem doppelwandigen Blechkasten mit höher oder niedriger zu stellenden Füssen besteht. Der Zwischenraum der Wandungen wird mit Wasser angefüllt, das durch eine untergesetzte Flamme, die durch einen Thermoregulator eingestellt wird, auf eine bestimmte Temperatur normirt ist. Bedeckt wird der Kasten noch durch einen Glasdeckel und letzterer sowie die Seitenwände sind zur Erhaltung der Temperatur noch mit Filz bedeckt. Die Temperatur des Apparats wird auf 61—62 ° C. gebracht und genau auf dieser Höhe erhalten, währenddem wird der Kasten durch Höherstellen zweier Füsse in eine schräge Lage gebracht, wodurch in den eingelegten Reagensgläsern das Serum eine schräge Oberfläche annimmt. Bei dem genannten Temperaturgrad erstarrt nach Koch's Erfahrungen das Blutserum zu einer durchsichtigen festen Masse, während bei der Temperatur der Eiweissgerinnung dasselbe vollkommen undurchsichtig wird. Es genügen 1—2 Stunden zumeist, um den vorher genannten Zustand im Reagensglas zu erreichen.

Fig. 6. Apparat zum Gerinnen von Blutserum.

Ehe man aber das Serum zu Culturzwecken verwendet, thut man wohl, dasselbe durch Einstellen in einen auf Körpertemperatur normirten Brutofen auf seine Keimfreiheit zu prüfen. Entwickelt sich nach einigen Tagen keine Bacteriencolonie, so kann es sicher als steril angesehen werden.

Die Anwendung des Blutserums erfolgt nun in der Hauptsache in der Form der Reagensglasculturen. Die wie oben beschrieben hergestellte schräge Fläche wird in derselben Weise, wie bei Agar-Agar angegeben, mit dem Platindraht beschickt, seltener verwendet man das Serum, wenn es aufrecht stehend erstarrt ist, zu Stichculturen. Uebrigens zeigt dasselbe insofern Aehnlichkeit

Digitized by Google

mit der Gelatine, als dasselbe ebenfalls von manchen Bacterien verflüssigt wird. Die Entwicklung lässt man, da das Serum Temperaturen von 37° und darüber gut aushält, am besten im Brütofen erfolgen.

Während die Anlegung von Reagensglasculturen keine besonderen Schwierigkeiten verursacht, ist die Anfertigung von Blutserumplatten ausserordentlich erschwert und man wird wohl gut thun, dieselben zu ersetzen durch die Cultivirung in kleinen Glasschälchen, wie oben angegeben worden ist. Will man die Platte anfertigen, so muss man das flüssige, sterile Serum bei 61—62° auf die im letztgenannten Apparat horizontal eingestellten Platten aufgiessen und so erstarren lassen, um sie nachträglich mit der Bacterienmasse durch Striche zu beschicken. Die erstarrte Masse haftet aber zumeist nicht fest an dem Glas und es müssen, um ein Herabgleiten zu vermeiden, durch Siegellacktropfen u. s. w. Hindernisse am Rande des Serums geschaffen werden.

Für manche Bacterien ist eine Entwickelung im gewöhnlichen Blutserum nicht möglich, dann würde man sich durch Zusatz von verschiedenen Substanzen, z. B. Zucker u. s. w. zu helfen versuchen.

Ehe Koch die Eigenschaft der Gerinnung des Blutserums bei niederen Temperaturen zu durchsichtigen Massen kennen gelernt hat, brachte er durch Beimischen von gewöhnlicher Gelatinelösung das Serum zum Erstarren. Von einer 5% wässrigen Auflösung der Gelatine, welche vorher im Heisswasserdampf sterilisirt worden war, und dem unter allen Kautelen entnommenen Blutserum benutzte er gleiche Theile zu einem Nährsubstrat, das als „Blutserumgelatine“ bekannt ist. In sterilen Reagensgläsern wird die Masse 8 Tage lang in dem oben beschriebenen Apparat, jeden Tag eine halbe Stunde, einer Temperatur von 52° C. ausgesetzt. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur erfolgt dann eine Erstarrung genau wie bei der Nährgelatine. Dieses Substrat kann man dann ganz benutzen wie die gewöhnliche Gelatine, besonders aber zu Stich- und Strichculturen.

Ausser diesen durchsichtigen festen Nährsubstraten werden zur Züchtung von Bacterien zur Zeit noch öfter auch undurchsichtige feste Nährboden in Anwendung gebracht. Unter ihnen wird die von Schröder zuerst zur Cultur benutzte Kartoffel noch mit besonderer Vorliebe benutzt. Dieser rein vegetabilische Stoff eignet sich aber auch in der That vorzüglich zur Entwickelung von isolirten Colonien und die von den verschiedenen Bacterienformen hervorgebrachten Reinculturen haben auf der Kartoffel wohl unterscheidbares Aussehen. S. Fig. 7.

Die Kartoffel erfordert natürlich ebenfalls eine besondere Zubereitung, die im wesentlichen folgendermaassen sich gestaltet: die gewöhnlichen Kartoffeln werden möglichst durch Waschen und Abbürsten von allen anhängenden erdigen und sonstigen Massen gereinigt und dann längere Zeit (1 St.) in Sublimatlösung (1‰) aufbewahrt. Mit einem geglühten Messer werden sodann alle verdächtigen, mit Fäulniss- oder anderen Keimen behafteten Stellen sorgfältig ausgekratzt und nun die so behandelten Kartoffeln in einen zum Heisswasserdampfapparat gehörigen, mit durchbrochenem Boden versehenen Kessel eine Stunde lang bei 100° C. durch den strömenden Heisswasserdampf sterilisirt. Nach dem vollständigen Erkalten wird zur Aufbewahrung eine feuchte Kammer hergerichtet und nun möglichst rasch die Kartoffeln, während sie nur mit gut desinficirten Händen berührt werden sollen, mit breiten geglühten und wieder erkalteten Messern zu zwei Scheiben geschnitten. Ohne die Schnittfläche mit irgend einem keimhaltigen Gegenstand in Contact zu bringen, legt man die Scheiben in die feuchte Kammer und schliesst dieselbe möglichst rasch, um Luftinfectionen zu vermeiden. Auf die Kartoffelscheiben wird aus dem Bacterienmaterial entweder mit geglühtem Messer breit aufgestrichen oder es werden mit Platindraht Einrisse vorgenommen. Der Impfung entsprechend wird sich das

Digitized by Google

Wachsthum gestalten, was je nach der Art des Bacteriums bei Körper- oder Zimmertemperatur eintreten wird. Pigmentbildung, Schleimwucherungen u. s. w. sind auf der sterilen Kartoffelscheibe ganz besonders gut zu beobachten, ja man kann bei manchen Bacterien durch Züchtung auf der Kartoffel bei Körpertemperatur Sporenbildung hervorrufen.

Den Vortheil der directen mikroskopischen Durchmusterung giebt man freilich bei Verwendung der undurchsichtigen Nährboden auf, man ist bei diesen sowie bei den flüssigen Nährmedien auf die Herstellung von Deckglaspräparaten zur Prüfung der Culturen angewiesen.

Nach der Besprechung der Herstellung und Verwendung der in der Bacterienforschung am meisten gebrauchten Nährmaterialien dürfte es am Platze sein, darauf hinzuweisen, dass natürlich alle möglichen anderen Stoffe sich als geeignet für diesen Zweck erweisen würden, die nur den an die vorgeführten Nährsubstrate gestellten Anforderungen, der Keimfreiheit, Festigkeit, Durchsichtigkeit u. s. w. entsprechen. Mit dem Obigen ist durchaus nicht etwa gesagt, dass die ganze Züchtung sich nur auf die erwähnten Nährsubstrate beschränkt, man wird ja oft in die Lage kommen, andere Substanzen zur Züchtung zu versuchen. So werden neben der Kartoffel zu Cultivirungszwecken sehr gern auch in manchen Fällen sterilisirter Brod- oder Kartoffelbrei verwendet, der in ERLENMEYER'schen Kölbchen unter Watteverschluss aufbewahrt wird.

Aber auch Nährflüssigkeiten wird man in einzelnen Fällen in Anwendung bringen müssen, aber freilich wird man sich immer dessen bewusst bleiben müssen, dass man bei ihrer Benutzung den Vortheil der mikroskopischen Controle aufgiebt. Handelt es sich unter anderem darum, entwickelte Culturen zu Injectionen zu verwenden, so wird man solche in Nährflüssigkeiten am bequemsten erfinden. Die Sterilisirung der Nährflüssigkeiten, sowie ihre Neutralisirung muss aber unter allen Umständen auf das genaueste berücksichtigt werden. Ersteres geschieht gleichfalls am zweckmässigsten im Heisswasserdampfapparat, während die Substanz in ERLENMEYER'schen Kölbchen unter Watteverschluss gehalten wird; die Impfung geschieht mit der Platinnadel nach gehörigem Durchglühen und Erkalten in der Weise, dass man sich eine Oese biegt und mit derselben das Impfmaterial durch Hin- und Herbewegen einbringt. Die Neutralisirung andrerseits bewirkt man durch Zusatz von Lösung von kohlensaurem Natron bis zur amphoteren oder schwach alkalischen Reaction.

Von den flüssigen Nährsubstraten haben eine für Bacterienentwickelung günstige Zusammensetzung die verschiedenen Arten von Bouillon, dann besonders Milch. Künstlich wurden verschiedene als „Normallösungen" beschriebene Gemische hergestellt, von ihnen seien erwähnt die „PASTEUR'sche Flüssigkeit", bestehend aus

1 Theil weinsaurem Ammoniak,

10 Theilen Candiszucker und der Asche von 1 Theil Hefe auf 100 Theile Wasser; die COHN'sche normale Nährflüssigkeit, welche auf

100 Ccm. destill. Wasser
0,5 " phosphorsaures Kali,
0,5 " schwefelsaure Magnesia,
0,05 " dreibasisch phosphorsauren Kalk,
1,0 " weinsaures Ammoniak

enthält. Ausser den genannten giebt es noch eine ganze grosse Anzahl andere Normallösungen, deren Schilderung hier übergangen werden darf.

Die durch Isolirung von anderen Bacterien gewonnenen Reinculturen geben dann dem Forscher Gelegenheit, die morphologischen sowie biologischen Eigenthümlichkeiten einzelner Arten genauer zu beobachten. Die allgemein für die Spaltpilze feststehenden Eigenschaften, sowie die der Einzelform zukommenden

Digitized by Google

Besonderheiten werden an anderer Stelle des Buches ausführlich behandelt, weshalb hier nur auf die betreffenden Capitel verwiesen sein soll.

3. Ganz besonders wichtig bleibt nun für die Bedeutung der Mikroorganismen die künstliche Reproduction der organischen Veränderung, als deren Ursache man das einzelne Bacterium hingestellt hat. Man würde diese Anforderung ja unbedingt stellen müssen, wenn sich nicht unüberwindliche Schwierigkeiten der Ausführung so mancher Infection in den Weg stellten. Ja es würden durch die Hervorrufung bestimmter Infectionskrankheiten durch die als deren Erreger erkannten Mikroorganismen grosse Gefahren für das Menschengeschlecht entstehen, ganz abgesehen noch von den allen menschlichen Gefühlen widerstrebenden directen absichtlichen Infectionen von Menschen. Es bedarf keines Wortes weiter zur Klarlegung dieser Verhältnisse, andererseits ergiebt sich hieraus auch die nothwendige Folge, dass man von den naheliegenden Experimenten bei menschlichen Ansteckungskrankheiten absehen und die Beobachtungen auf die genugsam vorkommenden unabsichtlichen Ansteckungen beschränken muss. Die weitere Möglichkeit ist gegeben in der Erzeugung bestimmter Infectionskrankheiten bei Thieren. Hierbei stellt sich aber bald das Missliche der ungleichen Empfänglichkeit der einzelnen Thierspecies für viele Krankheiten heraus. So ist man denn vorerst vor Allem angewiesen zu erproben, ob die zum Experiment zu verwendenden Versuchsthiere auch wirklich die analoge Erkrankungsform acquiriren können. Und dies letztere ist sehr oft nicht so ganz leicht gethan. Nun kurz, man ist bei der Wiedererzeugung von Infectionskrankheiten sehr beschränkt und es bleibt ganz und gar dem Einzelfall überlassen, ob eine analoge Erkrankung überhaupt und an welchen Versuchsthieren hervorgerufen werden kann.

Es handelt sich hier nur um einen kurzen Ueberblick über die bei der Wiedererzeugung von entsprechenden Krankheiten anzuwendenden Methoden der Infection.

Um in bestimmten Substanzen durch reingezüchtete Bacterienformen Gährungs- oder sonstige Umsetzungsprocesse hervorzurufen, bedarf es keiner besonderen Maassnahmen, nur ist das Prinzip der unbedingten Keimfreiheit der zu gebrauchenden Substanzen bis auf das peinlichste Maass durchzuführen, im Uebrigen geben die obigen Bemerkungen über Sterilisirung in der verschiedenen Form genügend Anhaltspunkte.

Etwas anders gestalten sich die Verhältnisse bei der Infection von Thieren mit bestimmten Krankheitserregern. Ganz gesunde Thiere müssen natürlich hier zum Experiment benutzt werden und dann können zur Infection nur derartige Methoden in Anwendung gebracht werden, die als solche in dem Thierkörper geringere Störungen verursachen. Selbstverständlich kann aber nur in dem Falle allen Einwänden von vornherein begegnet werden, wenn einmal nur sichere Reinculturen und dann keimfreie Instrumente, sowie für die Bacterien als Träger dienende sterile Medien dem Experiment dienen.

Die Infection des Thierkörpers mit den pathogenen Mikroorganismen erfolgt nun in der Hauptsache durch

1. die subcutane Impfung,
2. die Injection in die Körperhöhlen,
3. Inhalation,
4. Einbringung in die Blutbahn.

Die subcutane Impfung wird ausgeführt an allen möglichen Stellen des Thierkörpers, indem man sich durch Anlegung einer Hauttasche eine Haftstelle für die Bacterienmassen schafft. Zu berücksichtigen bleibt hier immer, dass, wenn, wie ja meist der Fall, die Haare eines Felles die Stelle bedecken, dieselben immer erst gründlich gereinigt oder besser entfernt werden müssen. In die Hauttasche führt man das Material, welches aus einer Reincultur ent-

Digitized by Google

nommen ist, mit einer sterilisirten Platindrahtöse unter Vermeidung der Berührung von keimhaltigen Gegenständen ein. Eine mögliche Blutung würde schon das Haften des Impfstoffes erschweren, weshalb die Hauttasche möglichst vorsichtig im Unterhautzellgewebe hergestellt werden muss.

Die Injection in die Körperhöhle wird natürlicherweise nur mit Flüssigkeit ausführbar sein und es ist zu diesem Zwecke die gewöhnliche Pravaz'sche Spritze benutzt, die aber so eingerichtet worden ist, dass sie eine Desinfection durch heisse Luft gut aushält. Zu diesem Behufe greifen die Fassungen der Spritze direct in eingeschliffene Windungen des Glascylinders, während der Stempel mit Asbestmasse umwickelt wird. Die zu injicirenden Culturmassen werden am besten in Wasser, das in mit Watte verschlossenen Kolben im Heisswasserdampf sterilisirt worden ist, suspendirt und zwar verreibt man sie in sterilisirten Glasschälchen mit desinficirtem Glasstab. Je nach der Concentration und Art der Bacterien wird man mehr oder weniger Theilstriche einspritzen. Die Stelle, an der die Nadel durch das Fell gestochen werden soll, muss ebenfalls gründlich gereinigt werden.

Zur Inhalation von bestimmten Krankheitserregern verwendet man leicht zerstäubbare Massen, die mit den ersteren gut vermischt worden sind. Als solche sind zu gebrauchen alle möglichen staubförmigen Substanzen, die aber natürlich keine schädlichen Wirkungen an sich schon auf den Thierkörper besitzen und andererseits durch Desinfection in der Hitze von allen sonstigen organischen Gebilden befreit worden sind. Es sind hier zu nennen der feine Seesand, pulverisirter Thon u. s. w. Diese werden mit den vorsichtig den Culturen entnommenen Bacterien durch Verreibung gut vermengt und dann in einem Gefäss, das die Versuchsthiere birgt, durch Aufwirbeln zerstäubt. In anderer Form kann man ein Zerstäuben noch herbeiführen, wenn man die Culturen in sterilem Wasser suspendirt und mittelst eines sogenannten Spray-Apparates auf die Thiere ausstäuben lässt. Dabei mag aber hingewiesen sein, dass manche Thierarten durch Nässe an und für sich schon leicht erkranken.

Das Einbringen von Bacterienculturen in die Blutbahn der Versuchsthiere erfordert einige Uebung, da manche kleine Fehler das Resultat zu leicht beeinträchtigen können. Zur Injection dient natürlicherweise das Venensystem und es können alle zugänglichen Venen dazu benutzt werden. Am leichtesten gestaltet sich die Ausführung an der Ohrvene, da man sich dieselbe sehr leicht zugänglich machen kann, die Injection selbst erfolgt mit der vorher erwähnten, besonders eingerichteten Pravaz'schen Spritze, wobei natürlich die Mengenverhältnisse ganz nach der Art der Mikroorganismen variiren müssen. Sehr geeignet zu dieser Form der Injection zeigt sich ferner die vena jugularis, deren Aufsuchen natürlicherweise einige Geschicklichkeit erfordert. Die Ausführung muss unter den Kautelen der grössten Reinlichkeit erfolgen und entspricht ganz und gar in den Einzelheiten der in der Physiologie geübten Methode. Die vena jugularis wird vorerst vollkommen frei präparirt, dann in einiger Entfernung mit doppelter Ligatur unterbunden, so zwar, dass die obere Ligatur wie gewöhnlich ausgeführt wird, bei der unteren aber dieselbe durch Einschaltung einer Glasperle leicht lösbar bleibt, also eine vorläufige Unterbindung darstellt. In dem Zwischenstücke wird durch einen kleinen Einschnitt in die Gefässwand ein steriles, mit verdicktem Ende versehenes Ansatzstück einer Pravaz'sche Spritze eingeführt und über der Verdickung desselben eine feste Ligatur angebracht. Vorher hat man zur späteren Benutzung bei der „Perlenligatur" noch einen Faden unter dem Gefäss hindurchgeführt. Nach Einführung der Kanüle wird die vorläufige Ligatur gelöst und es kann die Injection erfolgen. Sofort nach deren Beendigung wird der vorher untergebrachte Faden zur Ligatur geknüpft und so nach unten die Vene ebenfalls verschlossen, worauf man den Faden über der Verdickung der Kanüle wieder löst.

Digitized by Google

Der unangenehmste Zufall bei der letzteren Form der Injection ist der Eintritt von Luftblasen in das Venensystem, wodurch ohne weiteres ein Versuch fehlschlagen kann. Die zuletzt angegebene Methode schützt vor diesem Zufall am sichersten.

Die hier geschilderten Infectionsarten sind nur die gewöhnlichen, bei jedem Infectionsversuch zu verwendenden. Je nach dem Einzelfall wird sich aber die Methode auch modificiren lassen, was sich natürlich nach den Gesichtspunkten der möglichsten Nachahmung der natürlichen Ansteckung richten muss.

Am Schluss ist es vielleicht zweckmässig anzugeben, welche Apparate zu einer bacteriologischen Untersuchung gehören, wenn schon gleichzeitig nicht unbetont bleiben mag, dass viele der zu nennenden Gegenstände bei einer nur zeitweiligen Benutzung durch einfache im Hausgebrauch vorhandene Sachen ersetzt werden können. Für ein Laboratorium sind nöthig:

1. Sterilisirungsapparat für heisse Luft,
2. Heisswasserdampfsterilisirungscylinder mit Einsatzkesseln,
3. Sterilisirungsapparat zum discontinuirlichen Sterilisiren,
4. Apparat zum Erstarren der Nährsubstanzen mit schrägen Oberflächen,
5. Heisswassertrichter,
6. Drahtkörbe, Blechkästen für die Glasplatten,
7. Brutkasten mit Thermoregulator,
8. Bunsenbrenner oder Spirituslampen,
9. Glaskolben, Erlenmeyer'sche Kölbchen, Reagensgläser, Glasplatten,
10. Objectträger, hohlgeschliffene Objectträger, Deckgläser,
11. Platinnadeln in Glasstäben eingeschliffen,
12. Nivellirapparat zum Plattengiessen,
13. Glasschälchen, Uhrschälchen, Glasglocken zur feuchten Kammer, Glasbänkchen,
14. Pipetten, Maasscylinder,
15. Pravaz'sche Spritze mit Metallfassung,
16. Mikroskope und Farbstoffe, wie sie früher genannt worden sind.

ZUSAMMENSTELLUNG DER WICHTIGSTEN, JETZT BEKANNTEN BACTERIEN.

Nachdem im vorhergehenden die Methodik der Untersuchung im allgemeinen betrachtet worden sind, soll sich noch eine specielle Aufführung und Besprechung der einzelnen, zur Zeit bekannten Formen der Spaltpilze oder Bacterien anschliessen. Am zweckmässigsten erschien es, dieselben so anzuordnen, dass zuerst die bekannten Saprophyten und dann die Parasiten in Betracht kommen sollen. Diese beiden Hauptgruppen mögen wieder zerfallen nach den Wuchsformen in drei grössere Abtheilungen: kugelförmige, stäbchenförmige und schraubenförmige Bacterien. Der Tendenz der ganzen Zusammenstellung entsprechend sollen auch alle streitigen Punkte, wenn nöthig, berührt, aber nicht kritisirt werden. Selbstverständlich kann diese Uebersicht nur das Wesentlichste der Forschungsresultate bringen, ohne Anspruch zu machen auf Vollständigkeit.

A. Saprophyten.

a) Kugelförmige Bacterien.

1. *Micrococcus prodigiosus* (Taf. Fig. 5), welcher von Ehrenberg (Verhandlung der Berliner Academie der Wissenschaft 1839 über micr. prod.) noch als monas prodigiosum aufgeführt wird, gehört zu den sogenannten Pigmentbacterien, speciell zu den chromogenen Mikrokokken. Seine Colonien scheiden einen Farbstoff ab, der purpurroth im Anfangsstadium der Entwickelung zu nennen ist, später einen dunkleren Ton annimmt und ins grünliche schillert,

Digitized by Google

am ähnlichsten dem trockenen Fuchsinfarbstoff. Er gehört zu den Organismen, die sich in der Luft finden, wo aber sein Vorkommen verhältnissmässig selten ist. Gelangen die Keime auf geeigneten Nährboden, als welchen man besonders stärkemehlhaltige Substanzen, aber auch Fleisch und Milch bezeichnen muss, so bilden sich aus denselben rosenrothe bis blutrothe Zooglöen, deren Erscheinen früher zu den sonderbarsten Deutungen Anlass gegeben hat. Man sprach von Wunderblut, als man auf den Hostien die Entwickelung dieses Microben zu beobachten Gelegenheit hatte und ganz besonders wurden die rothen Flecke, welche durch denselben auf der Milch gebildet wurden, in Beziehung zu Krankheiten der Kühe gebracht. Es sind dies aber sehr natürliche Infectionen durch die Keime des genannten Micrococcus, der übrigens nach HUEPPE (Mittheil. a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. II. Bd.) in der Milch nach einiger Zeit das Caseïn zur Ausscheidung bringt und sich weniger im Serum als viel mehr in der Rahmschicht hält.

Die vegetativen Zellen des micr. prodigiosus bestehen aus mittelgrossen Kokken, die von einzelnen als kurze Stäbchen angesehen werden (EISENBERG, bacteriologische Diagnostik. 1886). Der Farbstoff ist nicht in den einzelnen Mikrokokken enthalten und scheint sich erst durch dieselben im Nährsubstrat zu entwickeln. Die Art des letzteren ist nun aber nicht etwa für die Entwickelung des Farbstoffes von Einfluss, sondern dem mikroskopisch anderen Kokken ähnlichen micr. prodig. specifisch eigen. Von ganz besonderem Einfluss auf die Entwickelung seiner Colonien ist die Zufuhr von Sauerstoff, weshalb auch die Farbstoffabsonderung zumeist nur oberflächlich zu finden ist im Nährboden, der übrigens durch das Wachsen der Colonien alkalische Reaction annimmt. Er gehört demnach zu den aërobiotischen Bacterien und ein Wachsthum unter Oel- oder Glimmerplattenabschluss ist nicht zu erzielen. Unlöslich in Wasser, löst sich der Farbstoff in Alkohol und Aether. Bei längerem Stehen der Culturen macht sich ein Geruch nach Trimethylamin bemerkbar. Säuren lassen die rothe Farbe heller erscheinen, Alkalien bewirken ein Gelbwerden derselben, Ammoniak bringt den ursprünglichen Farbstoff zurück, wenn Essigsäure ihn heller gemacht hat. Ueber die chemische Beschaffenheit des Farbstoffes sind die Untersuchungen noch zu keinem endgiltigen Resultat gekommen, nach SCHRÖTER und ERDMANN soll er in Beziehung stehen zu den Anilinfarben. (Ueber einige von Bacterien gebildete Fermente, COHN's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I., Heft II. Bildung von Anilinfarben aus Proteïnkörpern.)

Fig. 7. Kartoffelcultur von micr. prodigiosus.

Trotz des unverkennbaren Einflusses der Feuchtigkeit auf das Wachsthum, ist es bei diesem Organismus besonders bemerkbar, dass er eingetrocknet an Fäden, auf Kartoffelstücken u. s. w. sich Monate, ja Jahre lang lebensfähig erhalten kann.

In Bezug auf sein Wachsthum auf den verschiedenen Nährböden der Bacteriencultivirung ist zu bemerken, dass er in allen den gebräuchlichen

Digitized by Google

Substanzen sich gut entwickelt. Ganz besonders sind, wie erwähnt, die stärkemehlhaltigen Kartoffelscheiben geeignet, die Colonien zu üppiger Entfaltung gelangen zu lassen, ohne dass besondere Einflüsse, als Körpertemperatur u. s. w., zu Hilfe genommen werden müssten. Die Nährgelatine wird in Stichcultur sehr schnell um den Einstich herum verflüssigt unter Abscheidung des rothen Farbstoffes an der Oberfläche. Die Plattencultivirung lässt bald runde, glattrandige Colonien erkennen, die nach einiger Zeit den Farbstoff in sich finden lassen, dieselben gehen nach und nach in einander über und die gesammte Gelatine wird rapid verflüssigt unter Entwickelung des geschilderten Geruchs. Auch das Blutserum vermag der micr. prodigiosus, wenn auch langsam, zu verflüssigen unter den Erscheinungen wie bei der Gelatine. Hingegen das Agar-Agar verflüssigt er nicht, sondern bildet die blutrothen Auflagerungen auf der Oberfläche, ähnlich wie bei der Kartoffel.

Die Anilinfarbstoffe in den beschriebenen Lösungen werden von den einzelnen Kokken intensiv aufgenommen, besondere Eigenthümlichkeiten haben sie anderen gegenüber nicht.

Der micr. prodig. ist eine der bekanntesten Arten der Bacterien, mit ihm sind die mannigfachsten Experimente ausgeführt worden. Und in der That ist er geeignet, wie wenig andere, zu Versuchen über die Abtödtung von Bacterien durch chemische und thermische Einflüsse, da sein Wachsthum mit blossem Auge controlirbar ist. Es waren also hauptsächlich die Desinfectionsverfahren, deren Wirkung an ihm beobachtet wurden.

Eine pathogene Wirkung auf den Thierkörper ist bis zur Zeit einwandsfrei noch nicht erwiesen worden.

2. An den eben geschilderten Micrococcus prodigiosus schliesst sich noch eine ganze Anzahl pigmentbildende Mikrokokkenformen an, deren Eigenschaften theils mehr theils weniger gut bekannt sind. Sie scheinen sämmtlich ohne besondere Einwirkungen auf den Thierkörper zu sein, weshalb sie für die ärztlichen Kreise nur entfernteres Interesse haben dürften, jedoch der Vollständigkeit wegen angeführt werden mögen. Man hat durch Schröter (l. c.) einen *micrococcus aurantiacus* kennen gelernt, der auf Brod, gekochten Kartoffelscheiben und Eiweiss gutes Wachsthum in Form kleiner orangefarbiger Colonien zeigt. Er findet sich ebenfalls in der Luft und seine Zellen sind kleine Mikrokokken ohne Farbstoff in ihrem Innern. Diese Mikrokokken bilden den Orangefarbstoff, welcher in Wasser löslich ist. In der Milch schildert Hueppe (l. c.) sein Verhalten so, dass er an der Oberfläche des Rahmes intensiv gelbe bis orange Flecken bildet und das alkalische Serum gelblich oder röthlich färbt. Die Culturen desselben verflüssigen die Gelatine unter Niederschlag von orange Farbstoff ziemlich rasch, ihr Wachsthum geschieht auf Agar-Agar in schönen dunkelgelben Auflagerungen, dagegen in die Tiefe geht dasselbe nicht. Ohne genügenden Sauerstoff ist keine gute Cultur zu erreichen. Sehr grosse Aehnlichkeit hat er in seinen entwickelten Culturen mit den Kokken der Osteomyelitis und des Eiters, jedoch ist ein Zusammenhang zwischen diesen noch nicht erwiesen.

Ganz entsprechend verhält sich der von Cohn beschriebene *microc. chlorinus*, dessen Colonie ebenfalls aus Einzelkokken zusammengesetzt ist und den man in der Luft nachweisen kann, wenn die obigen Nährböden (Kartoffeln) der Luft ausgesetzt werden. Seine Einzelcolonien haben eine grüngelbe Färbung, die sich durch Säurewirkung aufheben lässt. Das Pigment besitzt die Eigenschaft, sich in Wasser zu lösen.

Eine hellgelbe Färbung bieten die Colonien des *microc. luteus* Schröter auf Kartoffelscheiben dar. Sein Farbstoff ist in Wasser unlöslich, sonst hat er keine bemerkenswerthen Eigenschaften.

Eine rostrothe Farbe bemerkt man hier und da auf den Excrementen der

Digitized by Google

Pflanzenfresser, die nach COHN's, EIDAM's und ZOPF's Untersuchungen hervorgebracht wird von Schleimcolonien eines *micrococcus fulvus* COHN. Seine Eigenschaften und Wirkungen sind noch wenig bekannt.

3. Zur Klasse der gährungserregenden Bacterien muss man den sogenannten *micrococcus ureae* COHN rechnen. Derselbe scheint aus der Luft in den normalen menschlichen Harn, wenn er ausserhalb des Körpers sich befindet, einzuwandern und in ihm den Process der Harnstoffgährung zu erregen, wie es zuerst PASTEUR (Sur la fermentation de l'urine, Compt. rend. 1876) nachgewiesen hat. Die Wirkung ist die, dass er dem Harn alkalische Reaction und Geruch nach Ammoniak verleiht, indem derselbe in kohlensaures Ammoniak übergeführt wird. Dass dieser Micrococcus in der That die Ursache der Umsetzung ist, haben die Untersuchungen vieler Autoren (VAN TIEGHEM, Sur la fermentation ammoniacale. 1864, v. JACKSCH, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 1881) bewiesen, speciell der obengenannte Forscher züchtete denselben rein und konnte in Nährlösungen, die Harnstoff enthielten, dieselbe Veränderung hervorrufen.

Der micrococcus ureae besteht aus verhältnissmässig grossen runden Zellen, die die Neigung haben sich in längeren Ketten aneinanderzureihen und sich in diesen mannigfach anzuordnen bis zu unentwirrbaren Gebilden. Man hat bei diesem Organismus verschiedene Gestaltungen beobachten wollen und zwar mehr cylindrische kurze Stäbchen und Kugeln, indess sind diese Angaben nicht von allen Autoren bestätigt worden.

Diese Harnstoffgährung scheint der micrococcus nur verursachen zu können, wenn der Harn frei an der Luft steht, aber nicht in der Harnblase. Für das Alkalischwerden des Urins im Körper, eines bekannten krankhaften Vorganges, werden jedenfalls andere Erreger anzunehmen sein, die ja zu leicht vermittelst unreinen Catheters u. s. w. in die Blase gelangen können. Der vorliegende Micrococcus ist ein obligat aërobiotisches Bacterium, das innerhalb der Blase keine genügende Sauerstoffzufuhr zur Erhaltung seiner Wirkung finden würde. Vielleicht bildet der von MIQUEL im Staub gefundene Bacillus ureae vermöge seiner Eigenschaft, ohne Sauerstoff vegetiren zu können, die Ursache der Veränderung des Urins im Körper.

Die Züchtung des micr. ureae gelang am besten in der oben angegebenen von PASTEUR angewandten Lösung, die Färbung erreicht man mit den gewöhnlichen Anilinfarben.

4. Da die Einzelzellen kuglige Form, die in Ketten aneinandergereiht erscheinen, besitzen, so dürfte das von CIENKOWSKI und VAN TIEGHEM (Die Gallertbildungen des Zuckerrübensaftes. CHARKOW 1878) beschriebene Froschlaichbacterium oder *Leuconostoc mesenterioides* am besten hier eine kurze Besprechung finden. Dasselbe kommt vor bei der Zuckerfabrikation und wird mit Recht daselbst gefürchtet. Es vermag nämlich den Zuckerrübensaft in ganz kurzer Zeit in eine schleimig-gelatinöse Masse umzuwandeln, die als grosse entwickelte Gallertklumpen das Aussehen des „Froschlaich" besitzen. Dieses Bacterium vermag grosse Mengen Zucker in verhältnissmässig kurzer Zeit zu verbrauchen und ist deshalb für die Zuckerfabriken ein höchst unwillkommener Gast.

Das Froschlaichbacterium setzt sich zusammen aus langen, aneindergereihten Kokken, die umgeben sind von Gallertscheiden. Die Scheiden folgen in ihrer Ausdehnung der Bildung der Kokken in der Richtung des Längswachsthums, können aber auch durch Umschlingungen Gewirre hervorbringen, die dann Körpern von unregelmässig warziger Oberfläche gleichen. Die Consistenz ist so gross, dass man bei älteren Wucherungen wirkliche Schnitte machen kann, in denen man dann in Kapseln die Kokkenketten finden kann. An dieser Bacterienart kann man nach de BARY den Entwickelungsgang eines arthrosporen Bacteriums constatiren. Die Arthrosporen bilden sich innerhalb der Kette heraus, indem sie grösser werden als die übrigen Kugeln und sich mit

Digitized by Google

der Sporenaussenhaut umgeben. Dies geschieht, wenn der Nährstoff bald aufgebraucht ist, nachher wird die Gallerthülle verflüssigt, und es tritt Zerfall ein. Aus der Spore kann sich dann unter günstigen Bedingungen innerhalb der Aussenhaut, die später berstet, die Gallertscheide aus der Zellwand bilden.

Es gehört die Wirkung des Leuconostoc zu den wirklichen Schleimgährungen.

Das Wachsthum des Organismus ist, wie ersichtlich, leicht zu erreichen auf und in zuckerhaltigen Substanzen, als Mohr- und Zuckerrübenscheiben, ferner deren Saft, aber auch in künstlichen Traubenzuckerlösungen gedeiht er, den Rohrzucker muss er sich erst in Traubenzucker umwandeln (invertiren, van Tieghem). In den Culturen kann man gleichfalls die Zoogloeabildung beobachten.

Der Entwickelungsgang des Leuconostoc gab Zopf Gelegenheit, den Pleomorphismus einer Bacterienart anzunehmen. Es mag dahingestellt sein, ob dies mit oder ohne Recht geschehen. Hueppe neigt sich der Ansicht zu, dass das Froschlaichbacterium zu den sogenannten Arthrostreptokokken zu rechnen sei.

5. In der Luft sind neben allen anderen Bacterien und Pilzen auch eine ganze Anzahl von verschiedenen *Sarcinen* zu finden, die sich durch ihr mikroskopisches Verhalten weniger als durch ihr Aussehen in der Cultur unterscheiden. Sie haben alle die Eigenthümlichkeit der Sarcinen, dass sie, bestehend aus grösseren oder kleineren kugelförmigen abgeplatteten Einzelzellen, eine Anordnung zu zwei oder vier in der Form von „Waarenballen" zeigen. Die Anilinfarben sind zu ihrer Färbung sehr gut geeignet und die Nährsubstanzen, wie Gelatine, Agar-Agar, Kartoffeln, bieten ihnen passenden Nährboden. Die entwickelten Culturen lassen aber sichere Unterschiede erkennen, so dass man nach Pigmentablagerungen unterscheiden kann, ein orange Sarcine, welche goldgelben Farbstoff bildet, die Gelatine langsam entlang des Impfstiches verflüssigt und in Platten als runde Colonien mit granulirtem Innern und glatten Rändern erscheint. Ferner ist eine gelbe Sarcine (Taf. Fig. 4) zu finden, deren Colonien ebenfalls runde Gestalt von schwefelgelber Farbe haben und die in Stichculturen die Gelatine nicht verflüssigt bei langsamem Wachsthum und Ausbreitung auf der Oberfläche. Dieser entspricht in ihrem Verhalten eine weisse Sarcine, bei der die Culturen nur statt gelbe weisse Farbe zeigen. Alle sind obligate Aëroben, die unter Sauerstoffabschluss nicht gedeihen; irgend welche Wirkung kann diesen Sarcinen bis jetzt noch nicht zugeschrieben werden.

Es dürfte hier der Ort sein, noch auf eine Form hinzuweisen, die von manchen Autoren getrennt von den anderen als Ascococcus — Schlauchcoccus — betrachtet wird. Es ist hierüber noch kein entgültiges Urtheil abzugeben, deshalb mag sie übergangen werden.

b) Stäbchenförmige Bacterien.

1. Das *bacterium aceti*, mycoderma aceti, Essigmutter, wurde 1861 von Pasteur nachgewiesen und an ihm die Eigenschaft festgestellt, dass es Alkohol in gegohrenen Getränken (Wein, Bier) zu oxydiren und in Essigsäure umzuwandeln vermag. Es geschieht dies unter Trübung der Flüssigkeit und Bildung eines erst zarten, nach und nach dicker werdenden Häutchens, welches allerdings der vom Saccharomyces Mycoderma hervorgebrachten Kahmhaut sehr ähnlich sein soll. Während das letztere aber aus einem Sprosspilz besteht, ist die erstere aus Bacterien zusammengesetzt. Wenn die Umsetzung so weit vorgeschritten ist, dass der vorhandene Alkohol verbraucht ist, so kann noch eine weitere Zerlegung in Kohlensäure und Wasser eintreten. Dieses Bacterium benutzt man zur Schnellessigfabrikation. Da der Essig des Handels immer diese Bacterien enthält und ebensolche auch in den Gefässen, in denen alkoholhaltige Getränke aufbewahrt wurden, immer vorhanden sein werden, so ist das plötz-

Digitized by Google

liche Sauerwerden von alkoholischen Substanzen, die neu in das Gefäss gebracht worden sind, leicht erklärlich.

Dieses bacterium aceti besteht aus kurzen cylindrischen Zellen, die vielleicht auch als Mikrokokken angesehen werden können. Durch Zusammenlegung der Zellen in der Längsrichtung entstehen Fäden, in denen nach DE BARY Involutionsformen öfter zu entdecken sind, die jedenfalls den Grund zu der Meinung gegeben haben, dass man es auch hier mit einem pleomorphen Bacterium zu thun habe (ZOPF, HANSEN). Die Sporenbildung ist bei diesem Bacterium noch nicht ermittelt. Der zur Züchtung geeignetste Nährboden ergiebt sich aus dem obigen.

2. Im Aufguss von stinkendem Schlammwasser findet sich, wie ZOPF gezeigt hat, das *bacterium merismopoedioides*. Der Entwickelungsgang desselben ist von dem genannten Autor dahin gedeutet worden, dass die verschieden dicken Fäden zerfallen können in Lang- und Kurzstäbchen, diese wieder in Kokken, welche schwärmfähig sind. Letztere zur Reife gelangt, bilden dann an der Oberfläche des Wassers ein Häutchen, das aus Haufen von Kokken besteht. Ihre Theilung geschieht in der ersten Zeit nach einer, später nach zwei Richtungen des Raumes, wodurch die tafelförmigen Bildungen entstehen. DE BARY dagegen nimmt an, dass die Kokken Arthrosporen sind, welche aus den zerfallenden Stäbchen nach Verbrauch des Nährmaterials hervorgehen und schwärmen, später aber bewegungslos werden und dann den erwähnten Vorgang zeigen. Beide haben die runden Formen (Kokken oder Sporen) im frischen Schlammwasser wieder zu Stäbchen, die sich in Fäden legten, auswachsen sehen.

3. Als den gewöhnlichen Fäulnisserreger sah COHN (Beiträge zur Biologie der Pflanzen I. Heft 2) das *bacterium Termo* an, welches er in faulendem Infus von Hülsenfrüchten fand. In der COHN'schen Nährlösung verursachte es eine Trübung derselben und bildete an deren Oberfläche eine grünliche Schicht, worin dasselbe in Massen vorhanden war. Die Gestalt desselben war eine stäbchenförmige und zwar war das Stäbchen ungefähr dreimal so lang als breit. Dabei war eine sehr lebhafte Eigenbewegung der Stäbchen zu beobachten, welche sich ausserdem noch durch fortwährende Theilung vermehrten. Auch in Reihen gelagert wurden dieselben angetroffen.

In Gelatine gebracht verursacht dieses Bacterium durch seine massige Vermehrung rapide Verflüssigung, weshalb auch seine isolirte Züchtung ausserordentlich erschwert oder gar unmöglich gemacht wird. Auch in diesem Nährboden bemerkt man die grünliche Verfärbung. Eine eigentliche Sporenbildung ist vorläufig noch nicht festgestellt. Die Färbung geschieht leicht mittelst aller Anilinfarben.

4. An das bacterium Termo schliessen sich an der Bacillus der Eiweisszersetzung von BIENSTOCK, der aber in die zweite Kategorie zu rechnen ist und dort behandelt werden wird, und die von HAUSER (Ueber Fäulnissbacterien und ihre Beziehungen zur Septicämie. Leipzig, Vogel, 1885) als *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis* und *P. Zenkeri* bezeichneten drei Bacterienformen. Aus dem Infus von faulendem Fleische hat er die genannten bekommen und sieht die ersteren speciell als Ursache der Fäulnissvorgänge an. Die Gelatine wird von der ersten Art rapid verflüssigt, während die zweite ein wenig langsamer diese Erscheinung zeigt, beide bilden in der Reagensglascultur einen weissen Niederschlag. Die dritte Form wirkt nicht verflüssigend auf die Gelatine, sondern wächst als Strich langsam aus. Die beiden ersten Formen zeigen nun nach HAUSER sehr schön die Uebergänge von einer Form in die andere, vom Micrococcus bis zur Spirille. Durch Versuche am Thier suchte er den Beweis für die Giftigkeit derselben zu erbringen, jedenfalls hat er sowohl mit dem faulenden Aufguss, wie mit der verflüssigten Cultur durch Einspritzen in die Blutbahn eine Intoxication erreicht. Dass diese Bacterien fäulnisserregend wirkten,

Digitized by Google

suchte er nachzuweisen dadurch, dass frische Organstücke des Thierkörpers in sterilen Gefässen mit den Culturen zusammengebracht sich in Consistenz und Farbe veränderten und besonders Geruch nach Schwefelwasserstoff annahmen. Ob aber damit bewiesen ist, dass diese Bacterien als die alleinigen und sicheren Fäulnisserreger anzusehen sind, bleibt zum mindesten noch zweifelhaft.

5. Aus dem Aufguss von Heusaamen gewinnt man ein allgemein in der Natur verbreitetes Bacterium, den Heubacillus oder *bacillus subtilis* Ehrenberg. Auf dem Infus bildet er unter üppiger Entwickelung eine Kahmhaut, die öfter runzelig erscheint. Die Bacillen können sich zu Fäden gruppiren, welche grosse Aehnlichkeit mit denen des Milzbrandbacillus haben, jedoch sind die Bacillen schmäler, an den Enden abgerundet und stark beweglich. Von Cohn wurden die Dauersporen als ovale, stark lichtbrechende, mit einem zarten Gallerthofe umgebene Körper nachgewiesen. Brefeld (Untersuchungen über die Spaltpilze, bacill. subtilis. Berlin 1878) und de Bary (Vorlesungen über Bacterien. Leipzig 1885) haben an diesem Bacterium das Auskeimen der vegetativen Zellen aus den Sporen genau beobachten können und es ist nach ihnen der Vorgang kurz so, dass die Sporenmembran nach einer Anschwellung quer einreisst. Der Protoplasmakörper streckt und dreht sich um 90°, bis das eine Ende aus der Oeffnung der Membran heraustreten kann. Das mit dem einen Ende noch eingeklemmte Stäbchen zeigt dann Längenwachsthum und baldige Theilung in zwei Bacillen unter Auftreten von Querwänden in den Körpern.

Die Bacillen selbst sind cylindrische stark bewegliche Zellen und 4—5 Mal so lang als breit. Bei guter Ernährung tritt in Flüssigkeiten eine lebhafte Schwärmbewegung ein, wodurch eine Trübung entsteht. An den einzelnen Stäbchen sind nun von vielen Autoren Geiselfäden oder Cilien während des Schwärmstadiums beobachtet worden, andere negiren das Vorkommen derselben. Nach einiger Zeit sammeln sich unter Klärung der Flüssigkeit die Bacillen wieder an der Oberfläche derselben, wo sie dann in Fäden, die durch das Zusammenlagern unter Bildung einer Zoogloea die Kahmhaut bilden, sich aneinander reihen. In den einzelnen Zellen erfolgt dann wieder die Sporenbildung unter gleichzeitiger Anschwellung der cylindrischen Zelle je nach der Lage der sich bildenden Spore. Auch bei diesem Bacterium haben die Anhänger der Inconstanz der Form alle Uebergänge je nach Entwickelungsstadien und Art des Nährbodens annehmen zu müssen geglaubt, speciell Buchner und Vandevelde haben nach Art und Reaction der Nährlösung das verschiedenste Verhalten in Bezug auf Dimension und Gestalt gesehen. Ganz abgesehen von Involutionsformen ist es allerdings nicht schwer einzusehen, dass die einen Nährstoffe zusagen und die Entwickelung begünstigen können, andere aber einen hemmenden, die Bacterien selbst verändernden Einfluss haben werden. Daraus allein auf die Vielgestaltigkeit zu schliessen, ist gewagt.

Das Wachsthum des bacillus subtilis betreffend ist zu bemerken, dass er als Aërobe in allen den gebräuchlichen festen Nährböden auch gedeiht, die Gelatine und das Blutserum rasch verflüssigend, auf Agar-Agar und Kartoffel einen charakteristisch feuchten, weissen, im Reagensglas durch Einengung runzelig aussehenden Belag darstellend. Die Einzelcolonie in der Platte ist verflüssigt, umgeben von einem Strahlenkranz, im Innern derselben liegt eine helle weisse Masse. Abschluss der Luft wirkt entwickelungshemmend.

Nach Buchner ist das Bacterium im Stande coagulirtes Eiweiss zu lösen und in Pepton überzuführen; insofern wäre er dem Fäulnisserreger ähnlich, indess ist die Wirkung dadurch schon unterschieden, dass bei seiner Wirkung nicht Gerüche wie nach Schwefelwasserstoff, sondern nur nach Ammoniak beobachtet werden können.

Von besonderem Interesse an diesem Organismus ist die ausserordentlich

Digitized by Google

grosse Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen äussere Einflüsse. Nach Brefeld, Prazmowski, Buchner ertragen dieselben die Siedehitze mehrere Stunden hindurch, auch durch die Bacteriengifte, Sublimat, Carbolsäure etc. sollen sie wenig beeinflusst werden.

6. In faulenden Eiern kommt ein Bacterium vor, das man mit dem Namen *bacillus Ulna* Cohn (Untersuchungen über Bacterien, Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. I, Heft 2) belegt hat und nach Prazmowski ebenfalls ein Beispiel der Vielgestaltigkeit sein soll. Die Stäbchen sind verhältnissmässig gross, an den Enden abgerundet und können sich in Ketten aneinanderreihen. Aehnlich dem bacillus subtilis ist er nicht ein eigentlicher Fäulnisserreger, er trübt aber die Flüssigkeit und bildet dann ein aus den Fäden bestehendes Häutchen an der Oberfläche. So zur Ruhe gekommen beginnt die endogene endständige Sporenbildung, wegen deren ihn de Bary zu den Köpfchenbacterien rechnet. Seine Züchtung geschieht nach Zopf in Aufgüssen von Hühnereiweiss.

7. Als *bacillus Megaterium* bezeichnet de Bary (Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. S. 499, Leipzig 1884) einen auf gekochten Kohlblättern gefundenen Organismus. Die cylindrischen Stäbchen desselben sind 4—6 Mal so lang als breit, theilen sich in Culturen immer der Quere nach in zwei Hälften oder minder grosse Stücke, die dann vollends auswachsen. Theilweise erscheinen die Stäbchen leicht an den Enden gekrümmt, sind aber aussen abgerundet. Eine Bewegung zeigen die Einzelzellen sowohl, wie auch die Ketten derselben um ihre Achsen und in fortschreitender Form. Die endständige Sporenbildung konnte de Bary direct beobachten und hat bei dieser Gelegenheit den Modus derselben genau beschrieben; die Auskeimung aus den Sporen geschah noch nach 24 stündigem Austrocknen, sobald neues Nährmaterial zugeführt wurde.

Die Züchtung dieses Bacteriums gelang in Fleischextract, Traubenzuckerlösungen und Gelatine. Letztere zeigt in Plattencultur die kleinen, runden verflüssigenden Einzelcolonien, die Stichcultur wird trichterförmig von oben nach unten eingezogen und verflüssigt. Besondere Erscheinung bietet sich auf dem Agar-Agar, da hier neben dem eigentlichen Wachsthum auch eine braune Färbung erscheint, während auf der Kartoffel sich weissgelbliche, käseartige Auflagerung zeigt. Zur Entwickelung ist die Sauerstoffzufuhr unumgänglich nothwendig.

Die Wirkung dieses Bacteriums ist noch nicht näher bekannt geworden.

8. Neben dem Heubacillus kommt auf dem Heu ein Bacterium vor, das in Lösungen von Fleischextract, Glycerin und kohlensaurem Kalk, letzterer zur Neutralisirung der entstehenden Säuren, einen Gährungsprocess erregt, bei dem Aethylalkohol sich bildet unter Einwirkung einer Temperatur von 36° C. Nach seinem Entdecker ist ihm der Name des *bacillus Fitzianus* oder Glycerinäthylbacillus gegeben worden. (Fitz, Ueber Schizomycetengährung. Bericht der deutschen chem. Gesellschaft.) Die Stäbchen zeigen nicht genau eine regelmässige cylindrische Gestalt, bilden aber in Fleischextractlösungen endogene Sporen der bekannten Form. Auch diesen Bacillus hat man als ein Beispiel für die Inconstanz der Formen hingestellt.

9. Wenn gekochte Kartoffelscheiben unter Einwirkung von Feuchtigkeit bei einer Temperatur von 20—30° und darüber gehalten werden, entwickelt sich ein eigenthümlich runzliger grauer Belag, der beim Abheben sich als sehr fadenziehend zäh erweist, man spricht dann schlechthin von der Bildung des Kartoffelbacillus. Es besteht die Auflagerung aus Bacillen, die sich als klein, dick und an den Enden abgerundet erweisen. Man kann dieselben auch zu kurzen Fäden vereinigt finden, die Stäbchen selbst sind stark beweglich und bilden endogene Sporen auf Kartoffeln.

Als ein aërobiotischer Organismus wächst er in der Gelatine zu rundlichen

Digitized by Google

mit gelblichem Grund versehenen Colonien aus, die rasch die Umgebung verflüssigen. Entlang dem Impfstich wird die Stichcultur in kurzer Zeit unter gleichzeitiger Bildung eines oberflächlichen Häutchens verflüssigt.

Die Färbung gelingt wie gewöhnlich, nur fällt es auf, dass die Bacillen aus den Culturen sich stärker in der Mitte als an den Enden färben.

Nach HUEPPE (Mittheil. a. d. kais. Gesund.-Amt II. Bd.) vermag der Kartoffelbacillus das Caseïn auszuscheiden und dann zu verflüssigen, die Kahmschicht und Caseïncoagula am Boden sind in eine schleimige Masse verwandelt.

10. Nachdem PASTEUR in der sauren Milch ein als Gährungserreger wirkendes Bacterium nachgewiesen hatte, wurde durch die exacten Untersuchungen HUEPPE's (Mittheil. a. d. kais. Gesund.-Amt. Bd. II) ein bestimmter *bacillus acidi lactici* (s. Taf. Fig. 11) als der Erreger der sauren Gährung der Milch festgestellt. Derselbe findet sich als solcher und als Dauerform jedenfalls überall, wo mit Milch gearbeitet wird, wohl kaum schon in den Milchdrüsen, und wird dann zum Milchsäureferment. Neben ihm finden sich, wie es natürlich ist, noch zahlreiche andere Bacterien in der normalen Milch, ohne dass denselben besondere Bedeutung zugeschrieben werden müsste, z. B. der sogen. „Milchmicrococcus" (Taf. Fig. 10). Die Wirkung dieses Organismus ist so, dass er zuerst den vorhandenen Milchzucker in Milchsäure und Kohlensäure umsetzt und dann die für die saure Milch charakteristische Gerinnung des Caseïns hervorruft.

Seine Eigenschaften sind die folgenden: Als kurzes plumpes Stäbchen, das nur $^1/_2$ Mal länger als breit erscheint, liegt derselbe meist zu zweien, selten nur in Massen aneinander. Vollständig unbeweglich vermehrt er sich durch Quertheilung, deren Eintreten man theilweise durch Einziehen in der Mitte erkennen kann. Die endogene Sporenbildung ist von HUEPPE ebenfalls als eine endständige beobachtet worden, es sind die Sporen kleine runde, glänzende Kugeln. Genanntem Forscher ist es gelungen, denselben aus saurer Milch zu isoliren und Reinculturen in Gelatine anzulegen, welche in Platten als breite, porzellanartig glänzende, flache Einzelcolonien erscheinen und im Stich zu weissen Streifen mit Neigung zum Oberflächenwachsthum auswachsen, die Gelatine wird dabei nicht verflüssigt.

Von diesen Culturen wird in vorher sterilisirte Milch eine Spur eingebracht und dadurch das Sauerwerden der Milch hervorgerufen. Es ist dabei gleichzeitig festgestellt, dass unter 10° C. und über 45,5° C. keine Milchsäurebildung mehr geschieht, das Optimum liegt zwischen 35—42° C. Die Caseïnausscheidung erfolgt erst nach einigen Tagen.

Nach HUEPPE's Angaben vermögen ausser diesem specifischen Bacillus in Zuckerlösungen und Milch noch manche andere Arten Milchsäure zu bilden, er nennt fünf Mikrokokkenarten, s. oben.

11. Unter Kefir oder Kephir versteht man ein flüssiges, moussirendes, alkoholhaltiges milchartiges Getränk, welches von den Kaukasiern aus der Kuh- oder Ziegenmilch unter Einwirkung der sogenannten Kefirkörner in ledernen Schläuchen bereitet wird. Diese Kefirkörner, welche die Grösse einer Wallnuss erreichen können, sind nach den Untersuchungen von KERN (Ueber ein Milchferment aus dem Kaukasus. Bot. Zeitung 1882) weisse höckrige Körper, die feste und gelatinöse Consistenz zeigen. Die mikroskopische Untersuchung lässt dieselbe in der Hauptsache aus einem stäbchenförmigen Bacterium bestehend erkennen, dem man den Namen eines *bacillus caucasicus* oder Kefirbacillus gegeben hat. Sie bilden längere Ketten, welche in grossen Gewirren durcheinander geflochten sind und massige Zooglöenmasse bilden, ähnlich dem Leuconostoc. Eine Sporenbildung hat KERN in der Form beobachtet, dass sich innerhalb eines Stäbchens zwei Sporen bilden sollen, was ihn zu dem Namen der *Dispora caucasica* veranlasst hat, eine Auffassung, mit der sich DE BARY nach eigenen Untersuchungen nicht einverstanden erklären kann. In die

Digitized by Google

Zooglöen eingeschlossen und ihnen anhaftend wird noch ein Sprosspilz, ähnlich der Bierhefe, gefunden. Zu dem Gährungsprocess, der im Kaukasus in Lederschläuchen vorgenommen, hier in Glasgefässen nachgeahmt wird, gehört aber noch der vorher besprochene Milchsäurebacillus. Alle drei Mikroorganismen gemeinschaftlich bringen die Umsetzung der genannten Form hervor, ohne dass dem einzelnen die Fähigkeit, allein dies zu bewirken, innewohnte.

Leider ist über die Entwickelungsgeschichte der Kefirkörner nichts näheres vorläufig noch bekannt, sie werden als getrocknete Masse eingeführt. In dem Kefir hat man ein vorzügliches, leicht verdauliches Ernährungsmittel für geschwächte Kranke u. s. f. kennen gelernt.

12. Eine Gährung der Milch anderer Art bringt der sogenannte *bacillus butyricus* (Taf. Fig. 12), bacillus Amylobacter nach VAN TIEGHEM (sur le Bac. amylobacter. Bullet. Soc. Botan. de France 1877), clostridium butyricum nach PRAZMOWSKI (Untersuchung über Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkungen einiger Bacterienarten. Leipzig 1880), FITZ (Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft 1882), HUEPPE (Mittheil. a. d. kais. Gesund.-Amt. Bd. II.) hervor. Dieses Bacterium ist in der Natur weit verbreitet, auf fleischigen Wurzeln, den Kartoffeln (Fäule), Käse, Sauerkraut u. s. w., bestehend aus kurzen, aber auch längeren, theilweise gekrümmten, beweglichen Stäbchen, die nur manchmal zu Fäden auswachsen. Bei dem endosporen Vorgang fällt es auf, dass das Stäbchen spindelförmig anschwillt, innerhalb der Verdickung bildet sich die Spore, die aber nicht geringere Dimensionen als die Schwellung zeigt. Es ist eines von denjenigen Bacterien, die sowohl als anärobe als aërobe zu bezeichnen sind.

Seine Cultivirung gelingt in Reinculturen leicht, in Platten als Einzelcolonie, sowie in der Gelatinestichcultur zeigt er grosse Tendenz zu verflüssigen.

Die Wirkungsweise ist nun eine ziemlich mannigfache, indem er als Erreger der Buttersäuregährung auftreten kann (Reifen des Käses), ferner zersetzt er die Cellulose der Pflanzenzellen, in dieser Beziehung ist er nach VAN TIEGHEM schon bis in die Steinkohlenperiode zu verfolgen. Nach HUEPPE's Angaben bringt er in der Milch eine labähnliche Gerinnung hervor, verwandelt das Albuminat in Pepton und weitere Spaltungsproducte (Ammoniak). Dieser Vorgang macht sich in der Milch durch Auftreten von bitterem Geschmack geltend.

Bei der Wirkung dieses Bacillus ist die Temperatur ausserordentlich von Einfluss, da sich dieselbe unterhalb 30° C. schon geringer erweist, während das optimum zwischen 35—40° C. liegt.

13. In manchen Gegenden wird besonders in der Sommerszeit eine spontane eigenthümliche Bläuung der Milch wahrgenommen, die man früher auf Erkrankungen der Kühe, verursacht durch im Futter enthaltene Pflanzenstoffe, zurückführen wollte, aber nach den Arbeiten von FUCHS (Beiträge zur Kenntniss der gesunden und fehlerhaften Milch der Hausthiere, Magazin für die ges. Thierheilkunde Bd. 7), NEELSEN (Studien über die blaue Milch, COHN's Beiträge zur Biologie Bd. III, Heft 2), HUEPPE (II. Bd. Mittheil.) u. s. w. auf die Einwanderung des Bacillus der blauen Milch (Taf. Fig. 13) beziehen muss. Er stellt ein stäbchenförmiges Bacterium dar, das in seiner Grösse etwas variiren und an den Enden etwas abgestumpft sein kann. Mit Beweglichkeit der Einzelzellen ausgestattet ist derselbe als ein obligater Aerobe zu bezeichnen. Die Theilung erfolgt gleichfalls durch quere Trennung, die Sporenbildung ist als eine sogenannte endständige aufzufassen, ein Vorgang, bei dem sich eine Anschwellung des Bacillus zeigt, wodurch eine keulenförmige Gestalt bemerkbar wird. In der Milch, der Gelatine, sowie in Altheeschleim u. s. w. geht die Sporenbildung schon bei gewöhnlicher Temperatur vor sich. Das Aussehen der Culturen ist bei diesem Organismus ganz besonders charak-

Digitized by Google

teristisch. Die Gelatine nicht verflüssigend, wächst derselbe als „Nagelcultur", deren Köpfchen milchweiss erscheint, aus, während die umgebende Gelatine erst grau, dann blaugrau, nach und nach immer dunkler gefärbt erscheint. Entsprechende Erscheinung bietet die kreisrunde, glattrandige, körnige Einzelcolonie der Platte. Das Agar-Agar färbt er ebenfalls graubraun. Auf der Kartoffel ist nur die Auflagerung weissgrau, während die Kartoffelsubstanz intensiv blau wird, nur im Blutserum vermag er nicht Farbstoff abzuscheiden.

Der bacillus cyanogenus bringt nach HUEPPE die Milch nicht zum Gerinnen, sondern macht sie alkalisch unter Bildung eines blauen Farbstoffes, der gewöhnlich schieferblau, bei gleichzeitiger Säuregährung aber intensiv blau erscheint. Die Farbenabscheidung ist das Product der Bacillen, welche selbst nicht gefärbt erscheinen. Irgend eine Wirkung auf den Thierkörper ist nicht bekannt.

14. Bei Gelegenheit der sogenannten bacterioskopischen Wasseruntersuchung wurden die verschiedensten Formen von Mikroorganismen aufgefunden, von denen nur einige, besonders die pigmentbildenden, Erwähnung finden sollen (BECKER, Methode der bacterioskopischen Wasseruntersuchung; BÖRNER's Reichsmedicinalkalender 1885).

Als *bacillus violaceus* (Taf. Fig. 7) wird ein Mikrobe des Wassers bezeichnet, der aus langen schlanken Stäbchen mit abgerundeten Enden besteht und grosse Beweglichkeit aufweist. In den gebräuchlichen Nährböden kommt es durch seine Colonien zur Entwickelung eines schönen dunkelvioletten Farbstoffes, der aber nur unter Einwirkung des Sauerstoffes sich bildet. Mit der verhältnissmässig langsamen Entwickelung geht eine Verflüssigung der Gelatine und des Blutserums Hand in Hand.

HUEPPE wies nach, dass dieser Bacillus in Milch gebracht zuerst himmelblaue Flecke auf dem Rahm erzeugte, die nach und nach auch dunkelviolett werden. Dabei wurde das Caseïn gefällt und die Flüssigkeit zwischen Rahm und Bodensatz erschien schmutzig violett, die Reaction war dann alkalisch.

Ein weiterer Saprophyt des Wassers ist ein *bacillus ruber*, dessen Zellen mittelgrosse Stäbchen darstellen, theilweise Ketten bildend. Den Culturböden gegenüber verhält er sich wie der unter 14. erwähnte, nur statt violetten dunkelrothen Farbstoff abscheidend.

Sodann hat man einen grüngelben Bacillus beobachtet, dessen Stäbchen sehr klein und fein sind. Er scheidet in den Nährboden grüngelben Farbstoff ab und verhält sich dem bac. violaceus entsprechend. Merkwürdig ist es, dass man einen solchen „grüngelben Bacillus" finden kann, der die Gelatine nicht verflüssigt, und einen gleichen, der dieselbe verflüssigt, eine Differenz, die zwei verschiedene grüngelbe Bacillen im Wasser anzunehmen zwingt.

Zu unterscheiden ist von dem nicht verflüssigenden grüngelben Bacillus ein im Wasser vorkommender sogenannter *bacillus fluorescens* (Taf. Fig. 9). Seine unbeweglichen vegetativen Zellen stellen kleine feine Bacillen mit abgerundeten Enden dar. Unter Einwirkung des Sauerstoffes bilden dieselben in der Gelatine oberflächliche kleine Colonien mit schillerndem Glanz und rufen in der Reagensglascultur eine schöne Fluorescenz bei schwacher Entwickelung entlang dem Stichcanal hervor, ohne eine Spur von Verflüssigung zu zeigen. HUEPPE benutzte seine Culturen, um Vergleiche mit dem Bacillus der blauen Milch zu machen, dem er im ersten Stadium der Entwickelung in der Cultur etwas gleicht. Indess bringt er nur eine schwach grüne Farbe in der Milch hervor und geht nie in das „Tiefblau" über.

Der *bacillus albus* des Wassers ist ein kurzes, bewegliches, aërobes Bacterium, das in Gelatine langsam ohne Verflüssigung zu einer weissen, nagelförmigen Cultur heranwächst; besondere Eigenthümlichkeiten besitzt er nicht.

Zuletzt mag noch ein gasbildender Bacillus des Wassers erwähnt

Digitized by Google

sein, der als ein sehr bewegliches, kleines Stäbchen in der Gelatine, sowohl an der Einzelcolonie wie in Stichcultur Gasblasen hervorbringt, die die Gelatine um sich herum auseinandertreiben. Später wird längs des Einstiches eine hosenartige Verflüssigung durch denselben hervorgerufen.

15. Der Eigenthümlichkeit seines Wachsthums wegen muss noch aufgeführt werden ein wurzelartig wachsender Bacillus aus der gewöhnlichen Gartenerde stammend, wo er sich allerdings nicht allzu häufig finden lässt. Er ist ein aërobiotisches, bewegliches Stäbchen von mittlerer Grösse, an den Enden abgerundet. Die Gelatine in Stichcultur verflüssigt derselbe sehr bald, in der Platte tritt um seinen Keim herum das charakteristische Wachsthum hervor: zuerst sieht man kleine schleierartige Trübungen, die sich nach und nach zu einem Geflecht vereinigen, das am ähnlichsten dem Pilzmycelium oder einer Baumwurzel ist. Nach und nach tritt auch hier Verflüssigung ein. Man hat grosse elliptische Sporen in den Bacillen zur Entwickelung kommen sehen.

16. Cohn (Beitr. z. Biolog. III. Heft I) entdeckte in faulendem Fleischwasser, Fleischextractlösungen in der gebildeten Kahmhaut, ein Bacterium, dem er den Namen eines *bacillus erythrosporus* gab, weil nach seinen Untersuchungen die Sporen der Bacillen durch eine eigenthümliche, schmutzig rothe Farbe ausgezeichnet waren. Sonst hat er keine bemerkenswerthe Eigenschaften.

c) Schraubenförmige Bacterien.

1. Als *vibrio Rugula* wird ein schwach schraubig gekrümmtes Stäbchen beschrieben (Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkungen einiger Bacterienarten. Leipzig 1880), das man in Pflanzeninfusen zu beobachten Gelegenheit hat. Auch kann dasselbe zu schraubigen Fäden mit geringer Krümmung auswachsen. Es scheint unter Anschwellung des Endtheiles eine endogene Sporenbildung ihm eigen zu sein, die gebildeten Sporen sollen Kugelform besitzen. Man hat ihm die Eigenschaft zugeschrieben, Cellulose lösen zu können.

2. Das *spirillum plicatile* ist von Ehrenberg (Die Infusionsthierchen. 1838) zuerst im Sumpfwasser gesehen worden. Man kann dasselbe in Trockenpräparaten von faulenden Algen vermittelst Färbung mit den gewöhnlichen Anilinfarben zur Anschauung bringen. Es ist ein ziemlich eng gewundenes, spiraliges Gebilde, das im lebenden Zustande ausserordentlich beweglich ist. Eine Züchtung in reinem Nährmaterial ist noch nicht gelungen, weshalb auch ein Urtheil über seine Eigenschaften nicht abgegeben werden kann.

3. Ein Spirillum konnte Denecke (Deutsche med. Wochenschr. 1885. Nr. 3) in altem Käse (Taf. Fig. 25) beobachten, welches eine entfernte Aehnlichkeit mit den Cholerabacillen aufweist, jedoch durch die Cultur leicht unterscheidbar ist.

Bestehend aus gekrümmten Bacillen, die sich in der Ruhe als spiralförmige Fäden aneinanderreihen, sind dieselben kleiner als die echten Cholerabacillen, auch dürften die Schrauben enger gewunden sein. Dieselben sind stark beweglich und obligate Aëroben, färben sich mit allen Anilinfarben, unter denen der alkoholisch-wässrigen Fuchsinlösung der Vorzug gegeben wird.

Das Hauptunterscheidungsmerkmal bleibt aber die Gelatinecultur, da sie auf Agar-Agar und Blutserum, welches verflüssigt wird, keine besonderen charakteristischen Eigenschaften zeigen und auf Kartoffel überhaupt nicht zur Entwickelung kommen.

Viel schneller als die Colonien der echten Cholera wachsen in der Gelatine die Denecke'schen Bacillen sowohl in der Einzelcolonie wie auch in der Stichcultur. Die ersteren zeigen runde Colonien mit dunkelgrauen Grenzen und grünlichem Innern, letztere erscheint schon kurz nach der Impfung als ein

Digitized by Google

breiter grauweisser Streifen, der sehr bald Verflüssigung zeigt in der Gestalt einer gleichmässigen, von oben nach unten gehenden Hose, später wird der gesammte Inhalt des Reagensglases flüssig. Besondere Eigenthümlichkeiten kommen ihm nicht zu.

Wenn man mit ZOPF und HUEPPE auch die vielgestaltigen Spaltalgen, als die crenothrix Kuehniana, die cladothrix dichotoma und die Beggiatoen zu den eigentlichen Bacterien rechnen will, so müssten dieselben unter den saprophytischen Arten noch ihre Besprechung finden. Da diese Bewohner des Wassers in der Hauptsache aber nur botanisches Interesse darbieten und höchstens dem Arzt bei Wasseruntersuchungen aufstossen würden, so soll von einer Beschreibung derselben an dieser Stelle Abstand genommen und auf die Originalwerke verwiesen werden.

Von bei weitem grösserer Wichtigkeit für den Arzt sind die zur zweiten Kategorie gehörigen Bacterien. Das sind die

B. Parasiten,

welche, wie der Name sagt, nur ihre Ernährung von dem sogenannten Wirth beziehen, ohne ihn sonst zu schädigen. Zum Unterschied von diesen spricht man von pathogenen Parasiten, wenn dieselben noch ausserdem im Stande sind, durch ihre Existenz den normalen Lebensgang zu verändern, Krankheitszustände zu erregen. Durch die von dem befallenen Individuum kommenden Abgänge können aber auch die Keime der Parasiten, die Krankheitskeime, nach aussen gelangen und so auf andere lebende Wesen übertragen werden und dann eine Ansteckung hervorrufen. Man muss der Erfahrung gemäss ganz sicher verschiedene Empfänglichkeit einzelner Wesen und ganzer Species in Bezug auf die verschiedenen Infectionskeime annehmen, man spricht dann von einer Prädisposition, die wiederum als eine der Species an sich zukommende oder als eine krankhafte aufgefasst werden muss.

Bei Beschreibung dieser Parasiten mag auch, so weit es nur angängig, eine blosse objective Charakterisirung ihrer morphologischen und biologischen Eigenthümlichkeiten gegeben werden.

a) Kugelförmige Bacterien.

Man hat versucht, die Mikrokokken je nach ihrer Lagerung in verschiedene Kategorien zu trennen, so in Monokokken, Diplokokken, Staphylokokken, Streptokokken u. s. f. Es muss nur dabei mit Ausnahme bei den in Ketten liegenden sogenannten Streptokokken die subjective Phantasie eine wesentliche Rolle spielen, da z. B. die sogenannten Staphylokokken oder Traubenkokken nur zum geringsten Theil einer wirklichen Traube beziehendlich ihrer Lagerung gleichen.

1. *Micrococcus haematodes* heisst ein in Kugelform vorkommendes Bacterium, das nach BABES (Vom rothen Schweiss. Biol. Centralblatt Bd. II. 1882) den menschlichen Schweiss, besonders an behaarten, der Luft wenig zugänglichen Stellen roth färbt und auch auf die Wäsche übergehen kann. Die mikroskopische Untersuchung hat gelehrt, dass die Haare solcher Stellen dicht mit Mikrokokken bedeckt sind. Künstlich gezüchtet sind sie auf gekochtem Hühnereiweiss, wo sie dieselbe Erscheinung machen.

2. Als die Ursache einer durch Einspritzung von Faulflüssigkeit erzeugten Allgemeinerkrankung von Kaninchen nahm KOCH (Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig. VOGEL. 1878) einen Micrococcus an, der als *micrococcus pyaemiae* der Kaninchen bekannt ist. Es ist dies ein meist einzelliegender, 0,25 μ im Durchmesser haltender Micrococcus. Die inficirten Thiere

Digitized by Google

erliegen einer wirklichen Pyämie, man kann bei der Section ausser den entzündlichen Erscheinungen an der Infectionsstelle schwere Entzündungen der inneren Organe nebst Metastasen in denselben wahrnehmen, im Blute, besonders den Capillaren, sind die Kokken durch die Anilinfärbungen im Deckglaspräparat und Schnitten nachzuweisen. Eine Uebertragung von dem Blute auf andere Kaninchen ruft dieselbe tödtliche Erkrankung hervor.

3. Kleiner als der vorhergehende ist der Micrococcus der progressiven Abscessbildung bei Kaninchen (KOCH, ebenda), ein Bacterium, das sich nach KOCH in Abscessen und besonders deren Wandungen findet, wie sie hervorgerufen werden durch Injection von faulendem Blute unter die Haut. Eine Allgemeinerkrankung wird dadurch nicht bewirkt.

4. Als Micrococcus der acuten infectiösen Osteomyelitis (Taf. Fig. 15 u. 16) ist vom Verfasser dieses (BECKER, Vorläufige Mittheilung über den die acute infectiöse Osteomyelitis erzeugenden Mikroorganismus. Deutsche med. Wochenschrift 1883. Nr. 46) ein Mikroorganismus bezeichnet worden, der sich im Eiter von osteomyelitischen Herden fand. Nachdem derselbe jedenfalls vorher schon oft beobachtet worden war (OGSTON, SCHÜLLER, ROSENBACH und KOCH, Photogramme im I. Bd. der Mittheilungen), gelang es dem Verfasser zuerst, denselben zu isoliren, zu cultiviren und erfolgreich zu übertragen.

Der Micrococcus findet sich einzeln und in Haufen zusammengelagert in dem Eiter sowohl, wie auch in metastatischen Processen innerer Organe, welche letztere beinahe Reinculturen desselben darstellen. Zum Nachweis eignen sich die gewöhnlichen Lösungen der Anilinfarben.

Die Nährsubstanzen, wie Gelatine, Agar-Agar, Blutserum, Kartoffeln, Milch (KRAUSE, Ueber einen bei der acuten infectiösen Osteomyelitis des Menschen vorkommenden Micrococcus. Fortschr. der Medicin Bd. II. 1884) u. s. w., bieten ihm geeignetes Nährmaterial zu seiner Entwickelung. Er wächst auf Kartoffeln und Agar-Agar zu schönen orange-gelben Colonien aus, während er in Gelatine nach einiger Zeit unter Abscheidung eines gleichen Farbstoffes Verflüssigung verursacht mit ausgesprochenem Geruch nach Sauerteig. Die Einzelcolonien in der Gelatineplatte kennzeichnen sich als orange-gelbe kleine Pünktchen, die später confluiren und die Gelatine ganz verflüssigen. Die Culturen gedeihen am besten bei Körpertemperatur, wo diese anwendbar ist.

Von den Culturen wird zur Wiedererzeugung osteomyelitischer Processe Thieren eine kleine Menge in die Blutbahn injicirt, bei grossen Mengen sterben sie an acuter Intoxication; im ersten Falle erkranken die Thiere leicht und genesen zum Theil ohne besondere Erscheinungen am Knochen; wird hingegen ein Insult des Knochens durch Quetschung oder subcutane Fractur vorangeschickt, so tritt unter Schwellung und Schmerzhaftigkeit jener Stelle ein Krankheitsprocess ein, der nach einiger Zeit zum Tode führt. Die Section lässt einen der acuten Osteomyelitis analogen Process erkennen, an der Stelle der Knochenverletzung sind Zerstörungen von weitgreifender Natur eingetreten. Neben Eiterung gewahrt man theilweise entzündliche Vorgänge am Knochen und Knochenmark. Die inneren Organe, besonders Herzmuskel und Nieren, zeigen metastatische Vorgänge. Ueberall findet man im Blut, veränderten Organen, die Mikrokokken wieder, welche cultivirt den obigen Charakter zeigen.

Durch die später veröffentlichten Untersuchungen von KRAUSE und ROSENBACH (Centralblatt für Chirurgie. 1884. Nr. 5) wurden die geschilderten Resultate nur bestätigt und erweitert. Ganz besonders wichtig war noch, dass man an diesem Micrococcus die Eigenschaft entdeckte, die Milch unter Eintreten von saurer Reaction gerinnen zu machen und Eiweiss selbst Rindfleisch unter Luftabschluss ohne stinkenden Geruch vollkommen aufzulösen.

In weiterem Umfange wurden die früheren Untersuchungen über Wundinfectionskrankheiten aufgenommen durch ROSENBACH (Mikroorganismen bei

Digitized by Google

den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1884) und führten zu schönen Resultaten. Er erforschte die Mikroorganismen, die im menschlichen Eiter zu finden sind und stellte als solche fünf differente Arten hin, von denen als erster und wichtigster der *staphylococcus pyogenes aureus* (Taf. Fig. 15 und 16) zu nennen ist, da er bei Eiterungen die Hauptrolle zu spielen scheint. Es ist ein kleiner (0,87 μ) meist in Haufen liegender Micrococcus, der biologisch genau dieselben Eigenschaften hat, wie der vorher beschriebene Micrococcus der Osteomyelitis, mit dem ihn ROSENBACH für identisch hält auf Grund seiner Versuche, mit den Culturen aus Abscessen osteomyelitische Processe hervorzubringen. Es ist nicht zu leugnen, dass durchgreifende Unterschiede zwischen beiden Mikrokokken nicht constatirt werden können und es ist nur auffallend, dass durch ein und denselben Micrococcus je nach noch unbekannten Umständen einmal leichtere Eiterungen, ein anderes Mal schwere locale Processe mit schweren Allgemeinleiden entstehen können. Die Lebensdauer dieses Mikroben scheint eine ausserordentlich grosse zu sein, nach drei Jahren fand ihn ROSENBACH noch lebenskräftig wieder gedeihen (siehe auch RIBBERT, Schicksale der Osteomyelitiskokken. Deutsche medicin. Wochenschrift Nr. 42. 1884).

In Bezug auf seine furchtbare deletäre Wirkung konnte es ROSENBACH an Thieren beweisen, dass durch eine Injection aufgeschwemmter Culturen in die Bauchhöhle Kaninchen und Hunde in kürzester Zeit zu Grunde gehen oder schwere phlegmonöse Eiterungen bekommen.

Diesen selben Micrococcus will man auch gefunden haben bei ulceröser Endocarditis, über deren Wesen allerdings eine Klarheit zur Zeit noch nicht herrscht.

Jedenfalls sind diese Mikrokokken ausserordentlich verbreitet in der Nähe der Menschen und ihr Eindringen in Wunden vermag die genannten Processe hervorzurufen. Ob eine wirkliche Eiterung entsteht ohne Mitwirkung von Bacterien, darüber ist grosser Streit entstanden, es ist aber wohl anzunehmen, dass Stoffe wie Terpentinöl, Crotonöl u. s. w. wohl entzündliche Processe hervorrufen, indess ohne Hinzukommen von Mikroorganismen, deren Eindringen in den durch die genannten Stoffe krankhaft afficirten Organismus wohl kaum zu verhindern ist, wirkliche Eiterungen nicht veranlassen können. PASSET (Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen. Berlin 1885) unterscheidet noch einen staphylococcus pyogenes citreus, einen cereus flavus.

5. Um vieles seltener als der eben besprochene ist in Eiterungen der *micrococcus pyogenes albus* (Taf. Fig. 17) anzutreffen, der gemeinschaftlich mit dem aureus oder auch allein in den genannten Processen zu finden sein kann. Ebenso klein, wie der aureus, hat er in den Culturen genau dieselben Eigenschaften, wie der genannte, nur producirt er keinen Orangefarbstoff, sondern seine Colonien haben ein weisses Aussehen. Bezüglich seiner Infectiosität gilt das vom aureus Gesagte, seine Widerstandsfähigkeit scheint eine sehr grosse zu sein. Ob es sich bei diesem Organismus nicht um Rückbildungsformen des aureus handelt, die noch die Infectiosität bewahrt haben, aber nicht mehr orange Farbstoff abscheiden können, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

6. Als sehr seltenen Befund bei Eiterungen der Pleura und der Gelenke stellt ROSENBACH noch einen *micrococcus pyogenes tenuis* hin. Seine Einzelzellen sind etwas grössere Kokken mit dunkleren Punkten bei der Anilinfärbung. Durch langsames Wachsthum ausgezeichnet, zeigt er sich in der Agar-Agar-Cultur als dünne fast glashelle Auflagerung, in der Gelatine ähnlich durchsichtigem Lack. Thierversuche sind mit diesem Micrococcus nicht angestellt worden.

7. [KITT hat experimentell constatirt, dass sich bei gewissen Formen der eitrigen, sklerotisirenden Mastitis bei Kühen in der Milch der entzündeten Drüsenabtheilung ein Coccus von 0,0002—0,0005 mm Grösse finde, welcher

Digitized by Google

theils einzeln, theils zu zweien oder in Ketten angetroffen werde (Deutsche Zeitschrift f. Thiermed. XII. 1). In allen fünf untersuchten Fällen enthielt die Milch förmliche Reinculturen. Auf Kartoffeln bildet der Mastitispilz weissgraue, mit ganz leicht schmutzig gelbem Tone versehene Tropfen und Striche, die rasch prominent werden und in wenig Tagen zu bedeutend erhabenen, stark glänzenden, wachsigen Belägen sich ausbreiten. Auf Gelatine-Plattenculturen entstehen knorpelweisse stecknadel- bis hanfsamengrosse, kreisrunde, scharf begrenzte, glänzende Tropfen; in Stichculturen opak-weisse, prominende Rasen- oder Nagelculturen. In allen Reinculturen fanden sich neben den Kokken einzelne exquisite Stäbchen von 0,009—0,012 mm.

In frischer und gekochter Milch vermehren sich die Kokken rapid unter Entwickelung einer saueren Reaction, während die Controlgläser neutral bleiben.

Einspritzungen von Reinculturen in die eine Milchcysterne bei vier ganz gesunden Kühen erzeugte unter heftigem fieberhaften Allgemeinleiden wieder eine bedeutende harte, schmerzhafte Schwellung des betreffenden Euterviertels; eine fünfte reagirte nur mit einer leichten, rasch vorübergehenden entzündlichen Affection, während subcutane Injectionen bei weissen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen ebenso erfolglos blieben, wie die Verfütterung von Kartoffelculturen an Meerschweinchen und ein junges Schwein. J.]

8. Schon oft waren in den Producten der croupösen Pneumonie des Menschen Bacterien gesehen worden (Klebs, Eberth, Koch u. s. w.) und nicht ohne Grund hatte Jürgensen den infectiösen Charakter derselben betont, als Friedländer (Die Mikrokokken der Pneumonie. Fortschritte der Medicin. 1883. I. Bd. S. 715) in den Lungen an genannter Krankheit verstorbener Menschen ein Bacterium regelmässig zu Gesicht bekam, das er als *micrococcus pneumoniae crouposae* (Taf. Fig. 28) bezeichnete. Dieselben stellen ovale Kokken dar, die man, wenn man will, auch Stäbchen nennen könnte. Sie liegen sehr oft als Diplokokken zusammen und zwar mit den spitzen Enden einander berührend und werden nach dem genannten Autor als mit einer Gallertkapsel umgeben (sogen. Kapselkokken) in der Lunge gefunden. In den Culturen hingegen fehlen die letzteren zumeist. Auch im rostfarbenen Sputum der Pneumoniker sind sie beobachtet (Ziehl).

Ihre Färbung gelingt sehr leicht mit allen Anilinfarben, eine isolirte Färbung resp. Doppelfärbung derselben errreicht man vermittelst der Gram-schen Methode (s. Huber, I. Theil) nicht, da dieselben zum Unterschied von anderen Mikrokokken die Farbe wieder abgeben. Zur Veranschaulichung der umgebenden Hüllen wendet Friedländer eine Lösung an von 50,0 conc. alkoholischem Gentianaviolett auf 100,0 aqu. destill., dem 10,0 acid. acet. zugesetzt wird.

Aus den pneumonischen Lungen isolirte genannter Forscher die Kokken und züchtete sie auf den gewöhnlichen festen Nährböden, wo ihnen ein besonders charakteristisches Wachsthum zukommen soll. Während auf dem Blutserum die Entwickelung als ein grau-schleimiger Belag zu finden ist, gewahrt man auf der Kartoffel eine weissgelbliche, zähe Masse mit feuchter Oberfläche, in der nach einiger Zeit, besonders bei Brütofentemperatur von 37—40°, Gasblasen sich einstellen. In dem Agar-Agar und der Gelatine wird entlang dem Impfstich nach Verlauf von 24 Stunden ein feiner weisser porzellanartiger Strich sich zeigen, dem an der Oberfläche eine gleichfarbige nach oben gewölbte Kuppe aufsitzt. Nach Verlauf von einigen Tagen ist die Kuppe immer deutlicher gewölbt zu sehen, in gleicher Weise auch der Strich und man kann das ganze Bild einem Nagel mit rundem Kopf vergleichen, und so die ganze Cultur als „Nagelcultur" bezeichnen. Später nimmt die Gelatine braune Färbung an und es treten ebenfalls Gasblasen auf. In den Gelatineplatten erscheinen die Einzelcolonien als schöne runde, weissgelbliche feinkörnige

Digitized by Google

Pünktchen, die an der Oberfläche liegende weisse Hervorwölbungen bilden. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt niemals ein und das Wachsthum der Mikrokokken ist unter Abschluss des Sauerstoffes ebenfalls zu erzielen.

Die Uebertragung des reinen Materiales auf Versuchsthiere gelang nun nicht in allen Fällen, speciell erweisen sich die Kaninchen unempfänglich gegen Einspritzung der aufgeschwemmten Massen in die Lungen, auch Meerschweinchen und Hunde waren nur in geringer Anzahl erkrankt. Hingegen führten Injection in die Lungen sowohl wie auch Inhalation der Bacterien bei 32 Mäusen zu dem Resultat, dass dieselben regelmässig Pleuritis und Pneumonie unter massiger Vermehrung jener Kokken bekamen und starben.

Nach den Untersuchungen von Brieger besitzt der Pneumococcus nur geringe Umsetzungskraft in den verschiedensten Nährlösungen, die nicht den schweren Erscheinungen, die im menschlichen Körper im Verlauf einer Pneumonie hervorgebracht werden, entsprechen.

Ohne Zweifel spielt der Pneumococcus eine grosse Rolle in der Aetiologie der Pneumonie, ob er aber für alle Fälle als der alleinige Erreger derselben anzusehen ist, muss dahingestellt bleiben, es liegt vielmehr die Annahme sehr nahe, dass es ätiologisch ganz verschiedene Arten von croupöser Pneumonie giebt, deren eine durch den Friedländer'schen Pneumococcus hervorgerufen wird.

In der neuesten Zeit hat A. Fränkel (Deutsche med. Wochenschrift. 1886. Nr. 13) ein viel empfindlicheres Bacterium bei croupöser Pneumonie beobachtet, das einen Diplococcus darstellt, der sehr subtiles Wachsthum im Blutserum bei Körpertemperatur in der Form von durchsichtigen Auflagerungen zeigt. Kaninchen sind gegen dieses Bacterium nicht refractär. Gleichzeitig plaidirt Fränkel dafür, den Friedländer'schen Mikroben nicht Pneumococcus, sondern Pneumobacillus zu nennen. Eine anderweitige Bestätigung des Fundes bleibt abzuwarten.

[Auch bei einer läppchenweise auftretenden, meist zur Nekrose führenden croupösen Pneumonie des Pferdes, Esels und Maulthieres hat Perroncito (Rev. f. Thierheilk. u. Viehz. 1885. Nr. 8; Communicat. à l'Académie Royal de Méd. de Turin. Séance 27. Février 1885) Spaltpilze gefunden, die sich von den Friedländer'schen Pneumokokken nur durch die mangelnde Tinctionsfähigkeit ihrer Kapseln, sowie dadurch unterscheiden, dass sich Kaninchen gegen Impfungen mit denselben nicht immun zeigten. Perroncito, der diese Pilze ebenfalls nicht als Kokken, sondern als den Bacillus pneumoniae cruposae equi bezeichnet wissen will, hat aus den Lungen spontan erkrankter Pferde Reinculturen derselben gezüchtet, und durch directe intrapulmonale Impfungen mit letzteren wiederum croupös-pneumonische Processe bei Kaninchen, Maulthieren und Eseln erzeugt, aus denen die gleichen Pilze wiederum in Reinculturen gewonnen werden konnten. J.]

Es bleibt noch übrig zu erwähnen, dass Emmerich (Fortschritte der Medicin. 1883) den Friedländer'schen Coccus in den Zwischendeckenfüllungen in den Räumen eines Gefängnisses, wo eine grosse Zahl von Pneumonieerkrankungen vorgekommen war, gefunden hat und ihn als die Ursache der Erkrankungen hinstellt.

9. Von Passet wurde im Eiter ein pneumokokkenähnlicher Bacillus entdeckt, der hier gleich seine Besprechung im Anschluss an den vorigen Micrococcus finden mag.

Ebenfalls grosse Kokken, die selten als Stäbchen imponiren können, haben dieselben beinahe ein gleiches Wachsthum wie die echten Pneumokokken, in der Gelatine bilden sich die weissen, wie fettig erscheinenden, prominirenden Einzelcolonien und die sogenannte Nagelcultur, der aber der in die Tiefe gehende Stift fehlt. Eine Gasproduction ist an diesen weder auf der Kartoffel noch in der Gelatine zu beobachten.

Digitized by Google

Beim Thierversuch ergiebt sich, dass derselbe bei subcutaner Einimpfung eine geringe Wirkung hat, dagegen in serösen Höhlen eitrige Entzündungen erzeugt; durch Inhalation war eine Infiltration der Lunge nicht zu erreichen.

10. Als die Ursache der infectiösen eitrigen Entzündung der Harnröhre des Menschen, welche als Gonorrhoe oder Tripper bekannt ist, und der Bindehaut-Blenorrhoe Erwachsener wie Neugeborener wurde von NEISSER (Centralblatt f. d. medicin. Wissenschaften. 1879. Nr. 28. Deutsche med. Wochenschrift. 1882) der *Micrococcus gonorrhoeae* oder *Gonococcus* aufgefunden. In dem eitrigen Secret wird dieser Organismus meist auf oder in den Eiterkörperchen befindlich, weniger häufig freiliegend, angetroffen, im ganzen ist die Zahl der Kokken verhältnissmässig gering.

Die Gonokokken sind ziemlich grosse (0,8 μ) Mikrokokken, die meist zu zweien zusammen liegen, so zwar, dass ihre Anordnung den Semmelreihen am ähnlichsten erscheint, da dieselben mit den abgeflachten Seiten einander anliegen. Sie vermehren sich durch Theilung abwechselnd nach zwei Richtungen des Raumes.

Die Färbung gelingt unschwer mit den gewöhnlichen Anilinfarben, das GRAM'sche Verfahren ist bei ihnen anwendbar.

Eine isolirte Züchtung des Gonococcus ist wiederholt versucht und auch als gelungen hingestellt worden, indess hat sich doch herausgestellt, dass dem genannten Organismus nur sehr wenige der gebräuchlichen festen Nährböden zusagen. So ist die gewöhnliche Gelatine, Agar-Agar, Kartoffel ungeeignet zu seiner Entwickelung und nur allein das Blutserum oder auch Blutserumgelatine bieten ihm günstigen Boden. BUMM (Der Mikroorganismus der gonorrhoischen Schleimhauterkrankungen. Wiesbaden 1885) hat vor kurzem die zahlreichen Angaben über Cultivirung und Uebertragung des Gonococcus NEISSER einer genauen Prüfung unterworfen und ist bezüglich des ersten Punktes zu dem erwähnten Resultat gelangt. Auf dem Blutserum entwickeln sich die Colonien am besten bei einer Temperatur von 30—34° C. als sehr dünne, graugelbliche Auflagerungen, die feuchte Oberfläche haben und nicht abgerundet, sondern diffus in die Umgebung übergehend, zu finden sind.

Eine Uebertragung aus den Culturen auf Thiere, sowohl in die Harnröhre wie in die Bindehaut, scheint wegen der Unempfänglichkeit dafür stets zu misslingen, da die als gelungen bezeichneten Experimente mit grosser Vorsicht aufzunehmen sein dürften.

Von künstlicher Infection menschlicher Individuen ist der Gefährlichkeit wegen meist abstrahirt worden, nur zwei Fälle sind bisher beschrieben worden. Der eine von BOCKHART (Beiträge zur Aetiologie und Pathologie des Harnröhrentrippers. Würzburg, phys. med. Gesellsch. 1882) mitgetheilte bezieht sich auf eine Uebertragung der Gonokokken aus der Cultur in die Harnröhre eines vor dem Tode stehenden Paralytikers. Dadurch soll eine wirkliche Gonorrhoe noch vor dem Tode entstanden sein. Trotzdem, dass BUMM diesen Versuch als einwandsfrei bezeichnet, wird doch mit Recht dagegen vorgebracht, dass sich bei einer Paralyse kurz vor dem Tode weitgehende Veränderungen aller Organe gebildet haben, die einer einwandsfreien Untersuchung keine geeignete Basis verleihen.

Anders verhält es sich mit dem zweiten Fall: BUMM hat von einer dritten Umzüchtung der Gonokokkencultur eine kleine Menge in die Harnröhre einer gesunden Frau eingebracht und dadurch nach drei Tagen eine heftige Gonorrhoe entstehen sehen. In dem Secret konnten die geschilderten Kokken wieder gefunden werden.

Controlversuche mit anderen Bacterien, dieselbe gonorrhoische Schleimhauterkrankung zu erzeugen, sind, soweit bekannt, immer fehlgeschlagen.

Und so hätte man es wohl bei dem Gonococcus NEISSER mit dem sicheren

Digitized by Google

Erreger der gonorrhoischen Schleimhautaffection zu thun. Der genannte Organismus wird von DE BARY wegen seiner sehr beschränkten saprophytischen Vegetation zu den obligaten parasitischen Bacterien gerechnet. Es mag hier angefügt sein die kurze Angabe über die von SATTLER gefundenen Bacterien im Trachom, die ebenfalls kugelförmige Mikroorganismen waren, deren saprophytisches Vorkommen noch nicht recht klargestellt ist.

11. Als *micrococcus tetragenus* (Taf. Fig. 8) ist von KOCH und GAFFKY (v. LANGENBECK's Archiv. Bd. 28. Heft 3. Mittheil. a. d. kais. Gesund.-Amt. Bd. II.) ein eigenthümliches Bacterium beschrieben worden, das sich bei Gelegenheit der Untersuchung über die Aetiologie der Tuberkulose in der Caverne eines Phthisikers fand.

Es besteht der Mikroorganismus aus vier kleinen in der Form der :: des Würfels zusammenliegenden Mikrokokken, die man je nach Lagerung auf die Seite als zwei oder auf einer Seite als einen zu Gesicht bekommen wird. Die Färbung derselben geschieht mit den gewöhnlichen Anilinfarben, für die GRAM'sche isolirte Färbmethode sind sie ebenfalls sehr gut geeignet.

Sie zeigen üppiges Wachsthum in der Gelatine und Agar-Agar, kommen aber auf Kartoffeln gar nicht und im Blutserum nur schwach zur Entwickelung. In der Gelatineplatte zeigen sich die isolirten Colonien bei schwacher Vergrösserung als schöne abgerundete, im Innern fein granulirte Pünktchen mit glasartigem Glanz. In der Stichcultur bilden sie nicht eine gleichmässig zusammenhängende Masse, sondern es gliedern sich im Stich einzelne abgerundete weisse Colonien von fettigem Glanz ab, und über dem Einstich entwickelt sich eine weisse Kuppe, so dass man hier auch von einer Nagelcultur sprechen kann. Im Agar-Agar sieht man ebenfalls weisse abgerundete Colonien zur Entwickelung kommen. Dieser Mikrobe verflüssigt die Gelatine niemals, wächst aber auch bei Sauerstoffabschluss.

Seine Wirkung auf den Thierkörper ist gleichfalls eine höchst interessante. Während er wohl zu den Veränderungen der menschlichen Lunge in keinerlei ursächlicher Beziehung steht, vermag er am Thier eine tödtliche Allgemeinerkrankung hervorzurufen. Meerschweinchen und Mäuse sind gleich empfänglich, sie erkranken nach 4—5 Tagen nach der subcutanen Einverleibung und sterben am 6. bis 10. Tage. Das Blut wie die Organe sind von grossen Massen dieses Micrococcus angefüllt, speciell die Milz zeigt auch makroskopisch ein ganz fleckiges Aussehen, herrührend von kleinen punktförmigen Metastasen.

12. [Nachdem von WILLEMS schon 1852, später von ZÜRN, HALLIER, SUSSDORF, PÜTZ, BRUYLANTS und VERRIEST, sowie von LUSTIG Mikroorganismen in den infiltrirten Partien der Lunge lungenseuchekranker Rinder gefunden, aber ohne genügende Beweise hierfür als die Ursache der Lungenseuche bezeichnet worden waren, haben POELS und NOLEN (Fortschr. d. Med. 1886. Nr. 7) neuerdings in dem pneumonischen Exsudat aller frischen Fälle von Lungenseuche Kokken gefunden, die sie nicht nur in Reinculturen isoliren, sondern auch mit Erfolg verimpfen konnten. Dieselben lagen theils einzeln, theils bildeten sie bis zu sechs Ketten, waren im ersteren Falle rund und ca. 0,1 μ im Durchmesser, im letzteren mehr elliptisch. Auch diese Kokken zeigten theilweise deutliche Kapseln, die sich aber ebenfalls viel schwerer tingirten, wie die der FRIEDLÄNDERschen Pneumoniekokken, von denen sie sich ausserdem noch dadurch unterschieden, dass sie in Impfstichen zwar ebenfalls Nagelculturen bildeten, welche aber je älter, um so mehr crêmefarbig, schliesslich gelb wurden. In Plattenculturen bilden diese Kokken scharf umschriebene, weisse, glänzende, leicht prominirende Colonien, auf Kartoffeln feuchte, gelbe, bis 1 mm dicke, sich wenig ausbreitende Beläge. Ihre Färbung gelingt leicht mit allen Anilinfarben.

Intrapulmonäre Impfungen mit Reinculturen erzeugten bei Kaninchen, Meerschweinchen und Rindern zum Theil sehr umfangreiche pneumonische Ver-

Digitized by Google

änderungen, deren pathologisch-anatomische Identität mit den specifischen Veränderungen bei Lungenseuche aber nicht genügend festgestellt ist; gleiche Erfolge hatte die Injection von Reinculturen dieser Kokken in die Trachea bei Hunden und Inhalationen derselben bei Mäusen. In allen pneumonischen Herden konnten die Kokken leicht nachgewiesen und aus ihnen wieder gezüchtet werden. 100 mit Aufschwemmungen dieser Culturen geimpfte Rinder sollen sich gegen spontane Infection refractär erwiesen haben. J.]

13. Wenn der Mageninhalt des Menschen nicht die normale Beschaffenheit besitzt, insbesondere wenn Dilatation oder chronische Katarrhe, carcinomatöse Erkrankungen bestehen, wird ein Mikroorganismus angetroffen, der als *sarcina ventriculi* durch Goodsir bekannt geworden ist. Die Literatur ist reich an Bearbeitungen dieses Gegenstandes, wennschon vom bacteriologischen Standpunkt aus noch wenig Aufschluss gegeben worden ist. Vor kurzem hat Falkenheim (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie Bd. 19, 1885) eine ausführlichere Bearbeitung über die Sarcine geliefert, wo auch die ausgiebige Literatur zu finden ist. Ausser im krankhaft afficirten Magen stösst man auf dieselbe in der Lunge, der Harnblase, im Blute (Virchow, Cohnheim). Da sie auch als Saprophyt ausserhalb des Körpers gesehen worden ist (Pasteur, Cohn, Schröter, de Bary), so nimmt man an, dass sie mit den Speisen in den Magen eingeführt wird, wo sie bei dem normalen Säuregehalt gleich anderen Bacterien vernichtet wird, hingegen bei Mangel der Säure weiter vegetiren kann.

Die sarcina ventriculi stellt Packete in der Form von Würfeln dar, diese sind zusammengesetzt aus rundlichen Zellen, die durch eine Gallertmembran zusammengehalten werden. So trifft man sie meist in dem menschlichen Körper an, man kann aber auch beobachten, wie aus einer Rundzelle durch Theilungen nach drei Richtungen diese körperlichen Gebilde entstehen. Die Packete trennen sich dann wieder und bilden den Ursprung neuer. Die Entwickelungsgeschichte derselben ist nicht näher bekannt.

Eine Färbung der Sarcine wird durch die Anilinfarben in gewöhnlicher Weise vorgenommen.

Zur Cultivirung kann man nach den Erfahrungen von Pasteur, Cohn, Schröter Nährlösungen, aber auch Kartoffeln verwenden, wo man sie als gelbliche an der Oberfläche wachsende Klümpchen wiederfindet. Falkenheim benutzte die Nährgelatine zur Trennung derselben von den übrigen im kranken Mageninhalt vorkommenden Bacterien. Er schildert ihre Entwickelung als ein ziemlich langsames, nur bis zu einer gewissen Grenze gehendes Wachsthum kleiner gelblicher nicht verflüssigender Colonien. Dass sich die Entwickelung mehr an der Oberfläche abspielt, lässt auf das Sauerstoffbedürfniss der Sarcine schliessen.

Ursächliche Beziehungen zu einer Erkrankung des menschlichen Körpers sind vollständig unbekannt und wohl auch als unwahrscheinlich anzunehmen.

14. Es folgen nun eine ganze Anzahl von parasitischen Mikrokokken, die in Kettenform zusammenliegen und deswegen „Streptokokken" genannt werden.

Die Seidenraupen können von einer eigenthümlichen Krankheit befallen werden, die unter dem Namen der Schlafsucht bekannt geworden ist und einen wirklichen epidemischen Charakter annehmen kann. Pasteur (Études sur la maladie des vers-à-soil Paris 1870) hat im südlichen Frankreich die Erkrankung zu studiren Gelegenheit gehabt und stellt als Ursache den *streptococcus bombycis* hin, wohl zu unterscheiden von dem Erreger der sogenannten Gattine oder Pibrine der Seidenraupen.

Der streptococcus bombycis ist in seinen Einzelzellen als ein Micrococcus zu erkennen, der sich in Ketten anreiht.

In dem Darmkanal der Thiere, wohin sie wohl mit der Nahrung gelangen, kommen diese Kettenkokken zu rascher Vermehrung, wodurch die Verdauung

Digitized by Google

gestört wird und das Thier schliesslich zu Grunde geht unter Bildung von Flecken auf dem Körper.

15. Von WOLFF wird ein *streptococcus perniciosus* ZOPF (Eine weitverbreitete thierische Mykose. Virchow's Archiv Bd. 92. 1883) als die Ursache der sogenannten Papageienkrankheit hingestellt, der die genannte Thiergattung unter heftigen Störungen von Seiten des Verdauungstractus zu Grunde richten soll. Bei der Section werden als regelmässiger Fund grauweisse kleine Knötchen angegeben, die den kettenförmig angeordneten Micrococcus enthalten. In wie weit die Annahme gerechfertigt ist, dass dieser Micrococcus die Ursache der Erkrankung ist, bleibt weiteren Untersuchungen überlassen.

16. Einen eigenthümlich verlaufenden Process einer progressiven Gangrän hatte R. KOCH (Ueber die Artiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878) bei Gelegenheit seiner Untersuchungen über die Wundinfectionskrankheiten auf einen Micrococcus zurückgeführt, der danach als streptococcus der progressiven Gewebsnekrose der Mäuse bekannt geworden ist. Derselbe ist ein ziemlich kleiner Micrococcus und zeigt eine Anordnung in der Form von Rosenkränzen. Verursacht wurde die Erkrankung durch Injection von Spuren von Faulflüssigkeit in das Mäuseohr.

Durch die Entwickelung dieses Bacteriums wird eine locale Erkrankung an der Infectionsstelle hervorgebracht, die von da aus einen progredienten Charakter annimmt, die Gewebstheile, als Blutkörperchen, Bindegewebs- und Knorpelzellen hinter sich nekrotisch zurücklassend. An der Grenze vom gesunden zum kranken findet man diese Kettenkokken massig angehäuft. Ein Uebergang in den Organismus scheint nicht stattzufinden, trotzdem sterben die Thiere schliesslich in Folge dieser Affection, wohl durch ein vom Kettencoccus gebildetes Gift.

17. Der Rothlauf des Menschen, Erysipelas, ist als Infections- und speciell Wundinfectionskrankheit ziemlich lange schon bekannt und es ist von vielen Seiten auch ein Micrococcus in den erkrankten Theilen mikroskopisch nachgewiesen und beschrieben worden (v. RECKLINGHAUSEN, LUMKOWSKI, VOLKMANN, HÜTER, TILLMANNS, ORTH). KOCH war es möglich, den Micrococcus noch näher zu charakterisiren und als Erysipelkokken von anderen zu unterscheiden. Den sicheren Beweis für die Specifität derselben erbrachte aber erst FEHLEISEN (Die Aetiologie des Erysipelas, Berlin 1883) durch die Reinzüchtung und erfolgreiche Uebertragung des *streptococcus erysipelatis* (Taf. Fig. 19).

Nach diesen Untersuchungen ist dieser Kettencoccus nur in den Lymphräumen der erkrankten Theile und allerdings meist abgestorben in den entwickelten Blasen vorhanden, nicht aber in den Blutbahnen und inneren Organen solcher Kranker. In ersteren bilden sie kleine Anhäufungen und vermehren sich dieselben durch Theilungen.

Die Einzelindividuen haben Kugelform und sind sehr klein (0,3 μ—0,4 μ), lagern sich in Torulaform charakteristisch aneinander. Ihre Färbung ist mit Anilinfarben leicht auszuführen, ein schönes Bild giebt hier die GRAM'sche Methode.

FEHLEISEN hat von den afficirten Hautstellen kleine Theile unter allen Kautelen entnommen und sie in verflüssigte Gelatine gebracht, woselbst sie dann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gehalten wurden. Aus den Hautstückchen keimten kleine weisse Pünktchen aus, die sich nach und nach zu einem grösseren Rasen entwickelten, von hier wurden Stichculturen in Reagensgläsern angelegt. Das Wachsthum in der Gelatine geschieht niemals unter Verflüssigung, vielmehr entsteht allmählich eine aus kleinen feinen weissen Pünktchen zusammengesetzte Impfcultur, an der Oberfläche sieht man keine Ausbreitung. Auf Agar-Agar ist die Cultur zumeist wenig sichtbar, höchstens sind feine weiss sich abhebende Pünktchen wahrzunehmen. Im Blutserum kann

Digitized by Google

man durch die Einwirkung der Körpertemperatur ein üppigeres Wachsthum als einen weissen, abhebbaren Rasen hervorbringen.

Auch in sterilisirter neutraler Rinderbouillon ist die Entwickelung möglich, besonders findet man hier die Kettenbildung sehr schön.

Wie erwähnt, wurden von FEHLEISEN Uebertragungen auf den Thierkörper mit dem Erfolg vorgenommen, dass sich wirkliche erysipelatöse Processe wieder entwickelten. Sehr gut geeignet wurde hierzu das Kaninchenohr befunden: die subcutane Impfung mit Reincultur rief nach einiger Zeit Röthung und Schwellung hervor, die von ihrer scharfen Grenze immer weiter in das gesunde sich fortpflanzte, ohne dass Eiterung entstand, dabei zeigte sich das Thier schwer krank. Nach mehreren Tagen kam der Process zum Stillstehen und Verschwinden.

Da man bei unheilbaren Tumoren durch Auftreten eines Erysipels öfter deren Verschwinden oder wenigstens Verkleinerung früher zu sehen Gelegenheit gehabt hatte, machte FEHLEISEN auch den Versuch der Uebertragung auf solche Kranke, die mit malignen Geschwülsten behaftet waren. Er konnte durch die Reinculturen wiederholt am Menschen echtes Erysipelas erzeugen und hatte so den sicheren Beweis für die ätiologische Bedeutung dieser Kettenkokken geliefert.

18. Neben den früher besprochenen Mikrokokken des Eiters ist von ROSENBACH auch ein *streptococcus pyogenes* (Taf. Fig. 18) beschrieben worden. Derselbe kommt annähernd eben so oft im Eiter vor wie der staphylococcus pyogenes aureus.

Auch dieser Mikroorganismus besteht aus kleinen Kügelchen, die etwas grösser erscheinen, als die des Erysipels, zumeist liegen sie im Eiter in kurzen Ketten aneinander, in der Cultur können dieselben sehr lang werden (microbe en chapelet, PASTEUR). Seine Tinction ist nach den gewöhnlichen Methoden ausführbar.

Die Culturen dieses Kettencoccus gleichen denen des Erysipelas, doch giebt ROSENBACH einige kleinere Unterschiede an, es sollen jene mehr einem Akazienblatte, diese einem Farrenkrautblatt vergleichbar sein. Ohne die Gelatine zu verflüssigen wächst derselbe sehr langsam zu kleinen feinen granulirten Colonien aus, die im Stich als eine feine Körnung wahrzunehmen sind. Die Einzelcolonie zeigt sich in der Mitte am massigsten und schwach braun gefärbt.

Auf Agar-Agar sieht man bei Körpertemperatur einen weissen, aus einzelnen Pünktchen bestehenden Streifen sich entwickeln, in gleicher Weise auf Blutserum, auf Kartoffeln zeigen sie keine weitere Entwickelung. Die Culturen verlieren sehr bald an ihrer Wirksamkeit, nach 4 Monaten sind dieselben abgestorben. Der Streptococcus des Eiters vermag, ohne Geruch zu entwickeln, Eiweiss und Fleisch aufzulösen.

Uebertragen auf Thiere bewirken diese Kettenkokken kein wirkliches Erysipel, auch sind gerade die Kaninchen wenig empfänglich dafür, hingegen bringen sie bei Mäusen langsam fortschreitende Eiterungen hervor.

Für den Menschen scheint der Kettencoccus des Eiters neben der Eiterproduction eine sehr gefährliche Wirkung äussern zu können, da er nicht durch sein Eindringen in die Gewebe plötzliche starke Reaction hervorzubringen im Stande zu sein scheint, sondern vielmehr allmählich ohne Entzündungsreiz auszuüben in die lebenden Gewebe eindringt und dieselben dann sicher zerstört.

19. Die diphtheritischen Membranen enthalten einen Kettencoccus, den *streptococcus diphtheriticus*, wie ihn OERTEL (Experimentelle Untersuchungen über Diphtherie. Deutsches Archiv für klinische Medicin 1871) wohl zuerst genannt hat. Nicht in allen Fällen von Diphtherie, hauptsächlich aber bei der Scharlachdiphtherie wird man ihm begegnen und es scheint, als ob er nur

Digitized by Google

dann sich einstellen könnte, wenn durch die Erkrankung Schleimhautläsionen vorher gesetzt worden sind. Dann allerdings dringt er nach LÖFFLER's (Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie u. s. w. Mittheilungen a. d. kais. Gesund.-Amt. Bd. II. 1884) Untersuchungen, welche durch HEUBNER und BAHRDT (Zur Kenntniss der Gelenkeiterungen bei Scharlach. Berl. klin. Wochenschrift 1884, No. 44), FRÄNKEL und FREUDENBERG (Ueber Secundärinfection bei Scharlach. Centralblatt für klin. Medicin. 1885. No. 45) ihre Bestätigung gefunden haben, auch in die inneren Organe ein. Es liegt sehr nahe, dass ihm dann eine Complication zugeschrieben werden muss, oder, wie es FRÄNKEL will, durch ihn eine Secundärinfection bedingt werden wird. Jedenfalls hat LÖFFLER bewiesen, dass dieser Kettencoccus nicht die Ursache der wirklichen Diphtherie bildet, er nennt ihn vielmehr einen accidentellen Begleiter derselben, welcher einen diphtherieähnlichen Process hervorrufen könne, wenn er im Rachen hat eindringen können.

Dieser Streptococcus besteht aus Ketten kleiner Mikrokokken, welche sich isoliren und in Gelatine züchten lassen. Ihre Culturen bilden kleine graue Colonien in derselben. Zur Darstellung im Gewebe bringt man dieselben am besten mittelst der GRAM'schen Methode.

Aus den Culturen auf Thiere übertragen bewirkt der Streptococcus Abscesse, eitrige Gelenkentzündungen, aber nicht diphtheritische Erkrankungen.

20. Die Puerperalfiebererkrankungen sind wohl grösstentheils recht eigentliche Wundinfectionskrankheiten. Es konnte darum nicht Wunder nehmen, dass auch hier Mikroorganismen gefunden wurden. Leider herrscht auf diesem Gebiete nach grosse Unklarheit, da man die verschiedensten Bacterien dabei nachgewiesen hat. Im Anschluss an die vorhergehenden sei erwähnt, dass auch hier ein kettenbildender Micrococcus gefunden worden ist, der als *streptococcus febris puerperalis* (Taf. Fig. 20) bezeichnet werden mag.

LOMER hat ausgedehnte Untersuchungen über diesen Gegenstand angestellt, vermag aber nicht zu einem bestimmten Resultat zu gelangen. Als wahrscheinlich stellt er hin, dass beim Puerperalfieber unter den vielen Mikroorganismen die kettenbildenden Kokken die constantesten und wichtigsten seien.

Es sind diese Streptokokken ebenfalls kleine rosenkranzförmig angeordnete, runde Zellen, die durch die gewöhnlichen Färbungen dargestellt werden können. Ihre Züchtung gelingt in Gelatine ebenfalls ohne Verflüssigung, sie bilden perlenschnurartig aneinander gereihte weisse, kleine Pünktchen entlang dem Stichkanal.

Die Thierversuche führten ebenfalls zu nicht befriedigenden Resultaten.

Bevor die Kettenkokken verlassen werden, ist es unumgänglich, darauf aufmerksam zu machen, dass dieselben trotz ihrer morphologischen und biologischen annähernden Gleichförmigkeit doch irgend welche Differenzen haben werden, die sich wegen mangelnder Methode unseren Beobachtungen vorläufig noch entziehen. Dass sie eine wesentliche Rolle spielen, ist bei ihrem Vorkommen bei den verschiedensten Infectionskrankheiten wohl sicher anzunehmen, voraussichtlich werden sie aber bei manchen Formen, wie der scarlatina, variola u. s. w., nur eine complicirende Rolle spielen.

21. [Von RIVOLTA, JOHNE und RABE wurde in jüngster Zeit noch ein wegen seiner exquisit geschwulstbildenden Tendenz interessanter, zu der von BILLROTH gebildeten Gruppe der Ascokokken gehöriger Micrococcus bei Pferden aufgefunden und näher beschrieben, der *Micrococcus ascoformans* JOHNE s. *staphylogenus* RABE (s. S. 222 d. Lehrbuches). In den durch ihn erzeugten mächtigen, chronisch-entzündlichen Bindegewebswucherungen bildet dieser Pilz innerhalb grösserer und kleinerer Granulationsknötchen maulbeer- und traubenförmige Conglomerate dicht zusammenliegender, meist runder Mikrokokkenhaufen, deren jeder von einer doppelt contourirten, glänzenden, hyalinen Hülle oder Kapsel

Digitized by Google

umgeben ist. Während JOHNE die letztere für ein verdichtetes, gallertartiges Ausscheidungsproduct der zoogloeaartigen Mikrokokkenhaufen hält, glaubt RABE dieselbe als ein aus platten, epithelioiden Zellen bestehendes Product des umgebenden Granulationsgewebes auffassen zu sollen.

RABE ist es gelungen, diesen Pilz in Reinculturen zu isoliren. Auf Fleischwasserpeptongelatine wächst derselbe in kugelrunden, scharf begrenzten, anfangs silbergrauen, später mehr gelblichgrauen, metallisch glänzenden und immer innerhalb der Gelatine liegenden Colonien, welche den Nährboden nie verflüssigen; auf Kartoffeln, auf welchen er am besten zu gedeihen scheint, entwickelt er mattgelbe, reifartige Ueberzüge, die wie erstere einen aromatischen, an Erdbeeren erinnernden Geruch besitzen. In Impfstichen (in Gelatine) entwickelt sich ein anfangs matter, weissgrauer, später milchweisser Faden, der sich von oben her ganz allmählich, blasen- oder kelchförmig einsinkend, klar verflüssigt und in der an der Verflüssigung angrenzenden Partie kleine Häufchen gelblicher Stäubchen enthält. Innerhalb der Culturen zeigten die Kokken niemals Spuren irgend welcher Kapselbildung.

Bei der subcutanen Verimpfung der Reinculturen dieses Ascococcus, gegen welche sich Mäuse immun erwiesen, wurden Meerschweinchen septisch getödtet, bei Schafen und Ziegen entstanden erhebliche entzündliche Oedeme oder Hautnekrosen, bei Pferden aber nach einem innerhalb 6—10 Tagen resorbirten entzündlichen Oedem 4—6 Wochen später eine langsam sich entwickelnde chronisch-entzündliche Bindegewebswucherung, in welcher sich innerhalb der darin befindlichen weichen Granulationsherde wiederum die mit Kapseln versehenen, ausserordentlich charakteristischen Mikrokokkenhaufen vorfanden. J.]

b) Stäbchenförmige Bacterien.

Der menschliche Verdauungstractus hat, wie es bei den in demselben sich abspielenden Zersetzungsprocessen leicht erklärlich ist, ein ganzes Heer von Bacterien als Bewohner, die sich verschieden auf die einzelnen Abtheilungen desselben vertheilen.

Die Mundhöhle allein beherbergt eine grosse Menge von Mikroorganismen der verschiedensten Art, deren z. B. MILLER bisher 25 verschiedene kennt.

1. Als *leptothrix buccalis* bezeichnet man eine Form von Mikroorganismen der Mundhöhle, die sich in langen Fäden in derselben, besonders aber in dem den Zähnen, besonders cariösen, anhaftenden Zahnschleim vorfindet.

Es sind dies lange, theilweise verschlungene Fäden von verschiedenem Durchmesser, welche hier und da in kleinere Glieder zerfallen. Eine Bewegung hat man an ihnen noch nicht beobachtet. Die Färbung dieser Fäden gelingt leicht mit Anilinfarben.

Eine Züchtung der leptothrix buccalis ist wohl bis jetzt nicht als wirklich gelungen zu bezeichnen.

Man bringt dieselbe, ob mit Recht oder nicht, muss dahingestellt bleiben, mit der Zahncaries in Verbindung.

2. Unter der grossen Zahl von MILLER (Ueber Gährungsvorgänge im Munde. Deutsche med. Wochenschrift. 1884, Nr. 36. Nr. 48. 1885. Nr. 49. 1886. Nr. 8) beobachteten Bacterien der Mundhöhle interessirt ganz besonders sein mit ε bezeichneter gekrümmter Bacillus (Taf. Fig. 26), da derselbe, wie es mit einer ähnlichen Form von LEWIS (Memorandum on the comma-shaped Bacillus etc. The Lancet. 1884) gethan worden ist, mit dem Cholerabacillus zusammengeworfen werden könnte.

MILLER konnte nachweisen, dass die Zahncaries abhängt von zwei Umständen. Einmal muss der Zahnschmelz zerstört sein, was wohl durch Säurebildung im Munde erreicht wird; dann können Bacterien in die Zahnkanälchen

Digitized by Google

eindringen und ihr Zerstörungswerk beginnen. Aus cariösen Zähnen sind von ihm bestimmte Formen von Bacterien isolirt worden, die er durch α, β, γ, δ, ε unterschieden hat. Es mag genügen, den ε-Bacillus hier kurz zu besprechen.

Derselbe stellt zarte, mehr oder weniger gekrümmte Stäbchen dar, die zu zweien zusammenliegend ein S oder O, zu mehreren spiralförmige Ketten bilden können, die entfernte Aehnlichkeit mit den Cholerabacillen besitzen. Die Anilinfarben werden von ihnen ebenfalls gut angenommen.

Bei genauerem Vergleich unterscheiden sich diese schon durch ihre Unbeweglichkeit von den Cholerabacillen. Viel deutlicher tritt aber ihr Unterschied hervor, wenn man die Gelatinecultur betrachtet. Ebenfalls die Gelatine in der Stichcultur verflüssigend zieht der ε-Bacillus ohne Oberflächenwachsthum längs des Impfstriches dieselbe in einer Hose ein. Die Einzelcolonien sind ebenfalls kleine runde, scharfrandige Punkte, die wohl an den einzelnen Stellen verflüssigt sind, aber nicht die ganze Gelatine der Platte zum Schmelzen bringen.

Durch die fünf Bacterien wird nach MILLER Zahncaries hervorgebracht.

3. Die Bacterien des menschlichen normalen Darminhaltes sind wiederholt Gegenstand neuerer Untersuchungen geworden. Besonders war es BIENSTOCK (Ueber die Bacterien der Faeces. Fortschritte der Medicin I. Nr. 19), welcher eine Uebersicht über die von ihm im Darm gefundenen Bacterien gab, es waren hauptsächlich Bacillen, während Mikrokokken wenig oder gar nicht von ihm beobachtet worden waren. Von ihnen mag hier der sogenannte Trommelschläger-Bacillus erwähnt werden. Er hat insofern eine grössere Bedeutung, als ihn BIENSTOCK constant antraf und ihn als eigentlichen Fäulnisserreger hinstellt. Derselbe vermag die Eiweisskörper zu zerlegen und zwar nach und nach bis in ihre Endpunkte, Kohlensäure, Wasser und Ammoniak. Das Caseïn sowohl, wie künstliche Albuminate werden von ihm nicht angegriffen, wodurch genannter Autor die Erscheinungen im Kindesdarm zu erklären sucht.

Dieses Bacterium zeigt sich in seinen Einzelzellen als ein verschieden langes, sehr bewegliches Stäbchen, welches auch zu Fäden auswachsen kann.

An dem einzelnen Bacillus hat man den Vorgang der endogenen Sporenbildung verfolgen können und zwar liegen die Sporen endständig. Dadurch entsteht eine leichte Verdickung des einen Endes, weswegen BIENSTOCK das ganze Bild mit einem Trommelschläger vergleicht.

Auf Agar-Agar cultivirt zeigt er keine besonderen Eigenschaften, er wächst bald zu einer homogenen, gelblichen Masse auf der Impffläche aus.

4. Ebenfalls in Faeces fand BRIEGER (Berlin. klinische Wochenschrift. 1884. Nr. 14) einen Mikroorganismus, der als BRIEGER's Bacillus aufgeführt werden mag.

Morphologisch zeigt sich ein kleines Stäbchen, das sehr charakteristisches Wachsthum in der Gelatine hat, indem es auf Platten zu Einzelcolonien auswächst, die die Gestalt schöner weisser concentrischer Ringe haben, ähnlich den Schuppen der Schildkröte angeordnet. Auf den übrigen üblichen Nährböden sind keine besonderen Eigenthümlichkeiten zu bemerken. BRIEGER hat seine physiologischen Eigenschaften dahin präcisirt, dass er als eigentliches Fäulnissbacterium zu betrachten sei. Derselbe zerlegt Zuckerlösung in Propionsäure mit Spuren von Essigsäure vermischt.

Aber auch auf die Versuchsthiere wirkt er giftig, besonders auf Meerschweinchen, indem er unter schwerer Allgemeinerkrankung sie zu Grunde richtet, sobald die Einverleibung durch die subcutane Impfung erfolgte, während der Verdauungstractus nicht zur Infection geeignet erscheint.

5. Als *bacterium Zopfii* beschreibt KURTH (Bacterium Zopfii. Bericht der deutschen botan. Gesellschaft) einen im Hühnerdarm vorkommenden Organismus, der nach ihm verschiedene Entwickelungszustände erkennen liess, es scheint

Digitized by Google

aber, als ob die Grundform desselben doch das Stäbchen darstellt und die beschriebenen Kokken als „arthrospore Bildungen" aufzufassen sind.

Die Züchtung dieses Organismus ist KURTH auf festem und flüssigem Nährmaterial mit Ausnahme des Blutserums gelungen. Es ist derselbe, wie es scheint, ein obligater Aërobe.

Verschiedene Temperaturgrade haben auf sein Wachsthum in Flüssigkeiten erheblichen Einfluss: bei 20° gehen die Knäuel, welche die Faden bilden, in einzelne bewegliche Stäbchen auseinander, über 35° sieht man kurze bewegungslose Bacillen. Nach Verbrauch des Nährmaterials tritt Zerfall ein und es treten rundliche Gebilde (Arthrosporen?) auf, aus denen wieder Stäbchen auswachsen in frischem Nährboden.

6. Die deutsche Choleracommission stiess bei ihren Untersuchungen im Affenmagen auf einen Mikroorganismus, der dem Lande, wo die Commission damals ihr Domicil hatte, zu Ehren *bacillus indicus* (Taf. Fig. 6) benannt worden ist.

Als kleiner beweglicher Bacillus mit abgerundeten Enden gehört er zu den pigmentbildenden Bacterien und zwar ist sein Product ein ziegelrother Farbstoff, wohl zu unterscheiden von dem des micr. prodigiosus. Des letzteren Farbenton kann man erzeugen, wenn man Ammoniak darauf tropft, Essigsäure bringt die frühere Farbe wieder hervor.

Bezüglich seines Wachsthums erscheint er abhängig vom Sauerstoffzutritt, da er ohne diesen nicht zum Wachsen zu bringen ist.

Auf sämmtlichen gebräuchlichen Nährstoffen gedeiht er, am schönsten zeigt sich seine Farbstoffproduction auf Agar-Agar und der Kartoffel. Das Blutserum und die Gelatine verflüssigt er sehr rasch. Die Einzelcolonien sind in der ersten Zeit der Entwickelung als kreisrunde verflüssigte, im Innern mit Farbstoff vermischte Punkte wahrzunehmen, rasch fliessen sie zusammen und vernichten die Gelatine der Platte. Die Stichcultur wird auch rasch von oben beginnend verflüssigt und es erscheint obenauf Farbstoffablagerung.

Irgend welche Einwirkung auf den Thierkörper ist nicht bekannt. Ueber die chemische Beschaffenheit fehlen bis jetzt noch genauere Analysen.

7. Ein weiterer pigmentbildender Mikroorganismus ist der *bacillus pyocyaneus* (Taf. Fig. 14), wie ihn GESSARD (De la pyocyanie et de son microbe. Thèse inaugurale etc. Paris 1882) zuerst beschrieb. Dem Chirurgen wohl bekannt ist das spontane Grünwerden eiternder Wunden und deren Verbände unter gleichzeitiger Verbreitung eines specifischen, süsslichen Geruches. Diese Veränderung beruht auf der Wirkung des genannten Bacillus.

Er erscheint als ein kleines, schmales unbewegliches Stäbchen, das von Manchen als Micrococcus aufgefasst wird. Seine Culturen sind leicht von anderen zu unterscheiden durch Bildung eines schönen blau-grünen Farbstoffes. Nur auf der Kartoffel erscheint er ohne denselben, vielmehr sind die entwickelten Culturen von einer rothbraunen schillernden Färbung. Im Agar-Agar entsteht ein grünlicher Belag, während gleichzeitig die ganze Masse schöne grüne Färbung annimmt.

In der Gelatine wächst er in einer leicht unterscheidbaren Weise, von ähnlichen grünen fluorescirenden Bacterien durch die durch ihn verursachte rasche Verflüssigung der Gelatine verschieden, was bei Sauerstoffabschluss nicht eintritt. In der Platte gewahrt man sehr bald eine diffuse grün-blaue Farbe auftreten, die Einzelcolonien verflüssigen und bilden durch Einsinken trichterartige Vertiefungen. Ehe es so weit kommt, sind dieselben als kleine runde, scharfrandige Punkte mit Körnung in der Mitte wahrzunehmen. Die Stichcultur zeigt Verflüssigung längs des Einstiches unter Bildung des genannten grünen etwas fluorescirenden Farbstoffes.

Durch sein Auftreten auf Wundflächen scheint eine Beeinträchtigung der eventuellen Heilung nicht einzutreten, wennschon man es mit starker Verun-

Digitized by Google

reinigung zu thun hat. Seine Entfernung von dem befallenen Theil, ja aus dem ganzen Raume gelingt in der Regel nicht. Es kommen ihm aber glücklicherweise keine toxischen oder für den Organismus infectiösen Eigenschaften zu.

Der Farbstoff ist genauer studirt und als Pyocyanin bezeichnet worden. Aus dem Eiter und den Verbänden kann er extrahirt werden mit Chloroform und krystallisirt in langen Nadeln. In angesäuertem Wasser färbt er dasselbe schön roth, in neutraler Lösung blau.

8. Unter der Zahl der als Krankheitserreger bekannten parasitischen Bacterien ist am eingehendsten und genauesten erforscht der Träger der Milzbrandkrankheit, der *bacillus anthracis* (Taf. Fig. 30 u. 31), der, von POLLENDER (Mikroskopische und chemische Untersuchungen des Milzbrandblutes. CASPER's Vierteljahresschr. f. gerichtl. Medicin 13) 1855 entdeckt, Gegenstand vieler wissenschaftlicher Untersuchungen geworden ist. Die Literatur darüber ist sehr ausgiebig, es mögen nur einige der hervorragendsten Autoren genannt werden, die sich mit diesem Bacterium beschäftigt haben, als da sind DAVAINE, PASTEUR, TOUSSAINT, CHAUVEAU, BOLLINGER, KOCH, GAFFKY, LÖFFLER, BUCHNER, ROLOFF u. s. w.

Der Tendenz dieses Anhanges entsprechend kann hier von einer ausführlichen Besprechung aller mit der Milzbrandfrage zu erörternden Verhältnisse nicht die Rede sein, vielmehr muss sich dieselbe auf die für die moderne Bacteriologie wesentlichen Momente beschränken. Eine sehr eingehende Arbeit hierüber ist in jüngster Zeit von W. KOCH-Dorpat (Milzbrand und Rauschbrand. Stuttgart 1886) erschienen, auf die hier hingewiesen sein mag.

Fig. 8. Milzbrand.

Im Blut und Gewebe der Organe von an Milzbrand verstorbenen Thieren findet sich regelmässig ein stäbchenförmiges Bacterium (Figur 8). Dasselbe hat cylindrische, ziemlich lange Zellen (durchschnittlich $3-6\ \mu$ lang und $1\ \mu$ breit), welche grosse Neigung zur Kettenbildung besitzen, sowohl im lebenden Blute wie in der Cultur, wo sie dann durch Verschlingungen ganz verfilzte Fadenbündel aufweisen können. Besonders zeichnen die einzelnen Bacillen vor anderen aus einmal ihre scharfen abgekanteten, ja sogar nach der Mitte zu etwas eingezogenen Enden und dann ihre vollkommene Bewegungslosigkeit. Ihre Vermehrung geschieht durch Quertheilung und durch Bildung endogener Sporen, aus denen durch einfache Längenausdehnung wieder Bacillen entstehen. Die Spore ist genau so breit, wie die Mutterzelle, aber um vieles kürzer; frei liegend erscheint sie als glänzender ovaler Körper.

Durch die Form der Culturen ist weiterhin der Milzbrandbacillus different von anderen Bacterien. In Nährlösungen, wie in festem Boden zeigt er gleich gutes Wachsthum, vorausgesetzt, dass die bekannten Bedingungen erfüllt sind, als Sauerstoffzufuhr, angemessene Temperatur, neutrale Beschaffenheit des Nährmaterials und genügende Feuchtigkeit. Auf Agar-Agar sieht man längs der Impfstellen einen weissen abhebbaren Belag entstehen, ähnlich wie auf der Kartoffel, wo entsprechend der Impfstelle trockene weisse Massen auftreten, hier bei Temperaturen von 37—38° C. Sporen bildend.

Digitized by Google

Das Blutserum wie die Gelatine verflüssigt der Milzbrandbacillus in langsamer Weise, entwickelt sich aber nicht unter Glimmerplatte.

Die Einzelcolonie gewährt ein unverkennbares, charakteristisches Bild, da jede einen kleinen runden Körper darstellt, der bei schwacher Vergrösserung in der Mitte ein wirres Durcheinandergehen von Fäden, die sich über den eigentlichen Rand hinaus erstrecken und wie Peitschenschnüre wieder einbiegen, darstellt. Diese weichselzopfähnliche Verflechtung ist der Milzbrandcultur ganz allein eigen. Nicht minder charakteristisch ist die Stichcultur: nach einigen Tagen sieht man in der Gelatine eine vom Impfstich ausgehende astförmige Verzweigung, deren Umgebung nach und nach verflüssigt wird, bis ein Theil der Gelatine aufgelöst erscheint in eine klare, durchsichtige gelbliche Flüssigkeit, an deren Grunde kleine weissgraue Wolken lagern, welche bei der Untersuchung aus den Milzbrandbacillenfäden bestehen.

Mit allen basischen Anilinfarben lassen sich die Milzbrandbacillen ohne Schwierigkeiten gefärbt darstellen, auch Doppelfärbungen mit Gentianaviolett (1 %) und Nachfärbungen mit Picrocarmin oder Eosin gelingen dabei, ingleichen auch die GRAM'sche Methode, wenn schon durch letztere die Bacillen nur kurze Zeit violett gefärbt erhalten werden können.

Durch diese eben beschriebenen Bacillen wird bei Säugethieren jene höchst ansteckende Krankheit hervorgebracht, die man Milzbrand oder Anthrax genannt hat. Auch auf den Menschen ist sie übertragbar und wird hier mit dem Namen der pustula maligna bezeichnet. Auffällig erscheint es, dass bei den einzelnen Thierarten Unterschiede zu constatiren sind, ja sogar dass hier Alter und Individuum eine Rolle spielen können.

Trotz der allgemeinen Verbreitung müssen doch einzelne mit Vorliebe befallene sogenannte Milzbranddistricte unterschieden werden.

Die gewöhnlichen Versuchsthiere, wie Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen u. s. w. sind sehr empfänglich für die Infection und erliegen unter schweren Allgemeinerscheinungen sehr bald derselben.

Im Blute und allen Organen, besonders der Milz, der Lunge, den Lymphdrüsen findet man während des letzten Stadiums der Erkrankung und noch kurze Zeit nach dem Tode die Bacillen in verschieden grossen Mengen, ihre Anzahl richtet sich durchaus nicht nach der Schwere der Erkrankung.

Ueber alle näheren Details muss auf die Specialwerke, ganz besonders auf die verdienstvollen Arbeiten KOCH's (Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit. COHN's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. II. Heft III. Zur Aetiologie des Milzbrandes, Mittheil. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt, Bd. I) hierüber verwiesen werden. Nur wenige Bemerkungen erscheinen unerlässlich.

Von R. KOCH (Ueber Milzbrandimpfung, Kassel und Berlin 1882) ist es mit Bestimmtheit nachgewiesen, dass die Erkrankung allein von dem Eindringen jenes Bacillus verursacht werden kann, gleichgültig ob derselbe als vegetative Zelle oder als Dauerform einverleibt worden ist. Man spricht von einem Impfmilzbrand, wenn die Invasion durch Wunden, von Darmmilzbrand, wenn dieselbe von der Darmschleimhaut aus erfolgte. Bei der letzteren Form geschieht die Infection ausschliesslich durch die widerstandsfähigen Sporen, während die Bacillen selbst beim Durchgang durch den Magen vielleicht durch die Säure wirkungslos werden (KOCH, GAFFKY, LÖFFLER, Experimentelle Studien über die künstliche Abschwächung der Milzbrandbacillen und Milzbrandinfection durch Fütterung. Mittheil. II. Bd.).

Da nun aber die Milzbrandbacillen in ihren vegetativen Formen nur im Thierkörper zur Entwickelung gelangen, ist es wohl anzunehmen, dass dieselben als Dauerform ihren Aufenthaltsort für gewöhnlich ausserhalb des Körpers haben und sich als solche lange halten können, bis sie, mit der Nahrung eingebracht, den Thierkörper durchseuchen. In der That sind ja auch die Milzbrandbacillen

Digitized by Google

eigentliche facultative Parasiten, d. h. sie bleiben ausserhalb des Körpers lebensfähig und vermögen im Körper als verderbliche Parasiten aufzutreten, ja sie sind aber auch im Stande, direct von einem Thiere auf das andere überzugehen.

Die Virulenz behält das Bacterium unter gleichbleibenden Ernährungsverhältnissen immer weiter. PASTEUR konnte aber experimentell durch Einwirkung des Sauerstoffes während längerer Züchtung bei 42—43° ihre Virulenz abschwächen. Von diesem abgeschwächten Material wurden Thiere geimpft und zeigten sich gegen spätere mit virulenter Masse vorgenommene Infection immun.

TOUSSAINT und CHAUVEAU, sowie KOCH, GAFFKY, LÖFFLER bestätigten dieses Resultat, nur wiesen sie die Ursache der Einwirkung der höheren Temperatur zu. Je höher die einwirkende Temperatur genommen wird, desto schneller erfolgt die Abschwächung, welche wieder gradatim von grösseren zu kleineren Thieren abfällt, so dass die kleinsten (Mäuse) am längsten noch von dem abgeschwächten Material inficirt werden können.

Auch BUCHNER (Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen. NÄGELI's Untersuchungen über niedere Pilze.) hatte diese Abschwächung beobachten können, zog aber daraus den nicht bewiesenen Schluss, dass die Milzbrandbacillen nach und nach in die nicht infectiösen Heubacillen umgewandelt worden waren. Da die BUCHNER'schen Bacillen aber starke Eigenbewegung, Culturen mit Häuten an der Oberfläche, und nicht die Sporenkeimung der Milzbrandbacillen besassen, so war man wohl berechtigt zu der Annahme, dass es sich hier gar nicht um Milzbrandbacillen mehr gehandelt hatte, sondern nur um die alles überwuchernden Heubacillen. Eine umgekehrte Heranzüchtung der Heubacillen zu Milzbrandbacillen ist ihm wohl niemals gelungen.

Ueber die Vorgänge und Veränderungen bei der erfolgten Infection durch Milzbrandbacillen im thierischen Körper, speciell im Blut, herrscht noch grosse Ungewissheit. Neuerdings hat METSCHNIKOFF (Virchow's Archiv. 1884. Bd. 97) Versuche darüber angestellt, deren Resultate noch der Bestätigung von anderer Seite harren.

9. Als *bacillus oedematis maligni* (s. Taf. Fig. 32) ist ein Bacterium durch KOCH (Mittheilungen a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I. S. 54) bekannt geworden, das aus den oberen Schichten der gewöhnlichen Gartenerde stammend, schwere krankhafte Zustände im Thierkörper hervorzurufen im Stande ist. Dasselbe ist jedenfalls identisch mit dem von PASTEUR (Bull. de l'Academie de Medicine. 1877. p. 793) beschriebenen Vibrion septique.

Man hat bei diesen Bacterien sehr bewegliche grosse Stäbchen vor sich (2,0—2,1 μ lang, 1,0—1,1 μ breit) mit abgerundeten Enden, zum Unterschied von den Milzbrandbacillen.

Oft findet auch eine Zusammenlagerung in langen Fäden statt. Die Anilinfarben werden sämmtlich zu ihrer Tinction benutzt, mittelst der GRAM'schen Methode aber sind sie nicht isolirt gefärbt darzustellen.

Man muss, um den durch genannte Bacillen erregten Krankheitsprocess hervorzurufen, dem Versuchsthier, am besten Meerschweinchen, sporenhaltige Gartenerde unter die Haut bringen, sie erkranken dann und sterben in kurzer Zeit. Bei der Section zeigt sich von der Impfstelle ausgehend ein ausgedehntes subcutanes Oedem mit wässerig-röthlicher Flüssigkeit und Gasblasen. Darin sind die Bacillen in grosser Masse vorhanden, während sie in die inneren Organe kurz nach dem Tode noch nicht eingedrungen sind. Die Oedemflüssigkeit ist für andere Thiere ausserordentlich virulent.

In diesem Bacillus hat man das Beispiel eines obligaten Anaeroben, also ein Wachsthum an der Oberfläche von Culturboden ist nicht möglich.

Nachdem GAFFKY (Mittheilungen a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I. S. 81)

Digitized by Google

das Auswachsen der Bacillen zu einem Netzwerk im Innern einer gekochten Kartoffel bei Körpertemperatur beschrieben hatte, wurden von HESSE (Deutsche med. Wochenschrift. 1885. Nr. 14) weitere Züchtungsresultate bekannt. Während in Stichcultur und Platten, die aus der Oedemflüssigkeit direct angelegt worden waren, ein Wachsthum nicht erreicht wird, kommt man dazu, wenn man unter allen Cautelen Gewebsstücke aus dem ödematösen Theile entnimmt und in der verflüssigten Gelatine in die Tiefe bringt. Von da aus entwickeln sich unter Production eines stinkenden Gases und Verflüssigung Colonien von trübem wolkigem Aussehen, von denen weitere Umzüchtungen gelingen; man sieht dann im Innern der Substrate wolkige diffuse Trübungen. Werden die Culturen bei Körpertemperatur gehalten, so kommt es auch zur Sporenbildung im Innern des Bacillus, der dann in der Mitte oder am Ende spindelförmig anschwillt; aus der Anschwellung geht später eine walzenförmige Spore hervor.

Die mit den Culturen inficirten Thiere gehen unter den obigen Erscheinungen rasch zu Grunde.

10. [Von den Bacillen des malignen Oedems verschieden sind, wie die Untersuchungen von KITT (Jahresber. der k. Centralthierarzneischule zu München 1883/84. S. 38) beweisen, die Bacillen des Rauschbrandes, jener von den Franzosen als „Charbon symptomatique" bezeichneten, früher dem Milzbrand zugezählten, in gewissen Alpenbezirken endemisch auftretenden Krankheitsform, welche zuerst von BOLLINGER und FESER von diesem abgetrennt und namentlich von ARLOING, CORNEVIN und THOMAS genauer untersucht worden ist. Diese Bacillen sind bewegliche an den Enden abgerundete steife Stäbchen von 0,00015—0,008 mm Länge, meist mit einer glänzenden, kugeligen Spore am Ende, seltener je einer an beiden Enden, welche von EHLERS (Das Bacterium des Rauschbrandes. Diss. Rostock 1884) als ein Clostridium bezeichnet wurden. Sie finden sich fast nur im Bindegewebe und erzeugen an der Impfstelle bei Ziegen, Kaninchen, Meerschweinchen, Schafen, Hunden, Tauben und Hühnern eine stark entzündliche, blutig-seröse Infiltration, die sich oft weit in die angrenzende Musculatur fortsetzt und zu starker Gasentwicklung führt. Trotz der makroskopischen Aehnlichkeit des Rauschbrandes mit dem malignen Oedem hält KITT beide für verschiedene Krankheiten, weil die Sporen des malignen Oedems fast überall in den oberen Culturschichten des Bodens, die des Rauschbrandes nur an bestimmten Localitäten vorkämen, letzterer stets, ersterer nicht immer letal verlaufe; auch bilde das Auswachsen der Oedembacillen in die bekannten langen, gebogenen Fäden einen ganz charakteristischen Unterschied.

Die Injection kleiner Mengen des Rauschbrandvirus ins Blut ruft ein abortives Kranksein hervor, das gegen spätere subcutane Impfungen immun macht. ARLOING, CORNEVIN und THOMAS entdeckten ein Verfahren, welches durch Erhitzung auf 85—100° C. das Rauschbrandvirus derartig abschwächen soll, dass Impfungen mit diesem abgeschwächten Virus ohne alle Gefahr für die Impflinge eine Immunität gegen den Rauschbrand erzeugen sollen (s. STROBEL, Zur Rauschbrandimpfung; Schweiz. Arch. f. Thierheilk. 1885, Heft 1). J.]

11. Unter den Organismen, welche R. KOCH (Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878) bei seinen Untersuchungen über die Wundinfectionskrankheiten durch Einbringen von geringen Mengen einer Faulflüssigkeit im Thierkörper zur Entwickelung brachte, ist der Bacillus der Mäusesepticämie (s. Taf. Fig. 33) einer der wichtigsten und interessantesten. Nebenbei sei bemerkt, dass auch durch Einimpfung von dem faulenden Pankewasser Berlins die als Mäusesepticämie bezeichnete Krankheit hervorgerufen wurde.

Wenn Hausmäusen — Feldmäuse verhalten sich immun — in eine Hauttasche die faulenden Substanzen tropfenweise beigebracht werden, so erkranken

Digitized by Google

dieselben sehr bald unter heftigen Allgemeinerscheinungen. Die Thiere athmen sehr hastig, sitzen zusammengekrümmt mit struppigen Haaren, unter denen die Haut ganz geröthet erscheint, besonders auffallend zeigt sich die Bindehaut der Augen, sie secernirt sehr stark, so dass die Lider bald verkleben. Nach höchstens 2—3 Tagen sind die Thiere gestorben und bei der Section erweisen sich die inneren Organe, abgesehen von einer leichten Schwellung der Milz, unverändert. Die Erscheinungen an Haut und Augen bestehen auch im Cadaver noch. Rings um die Impfstelle herum besteht etwas Oedem, in dem zahlreiche Bacillen von der gleich zu beschreibenden Form enthalten sind. In allen Organen, besonders in den Capillaren derselben, und dem Blut treten dem Untersucher dieselben Bacillen entgegen, in letzterem ist zu beobachten, dass sie sehr oft innerhalb der weissen Blutkörperchen in grossen Massen vorhanden sind. Durch ihre stete Vermehrung bringen sie schliesslich das Blutkörperchen zum Bersten und man kann dann noch aus der Anordnung der Bacillen auf die früheren Verhältnisse Rückschlüsse machen. Die freigewordenen Bacillen treibt der Blutstrom auseinander.

Fig. 9. Mäusesepticämie.

Die vegetativen Zellen sind ausserordentlich kleine Stäbchen, die dem geübten Auge Koch's solange entgangen waren, bis er die früher erwähnten Verbesserungen am Mikroskope einführte und die Anilinfärbung zu Hülfe nahm. Die Bacillen nehmen die letztere sehr gut an und ermöglichen durch das Festhalten des Gentianaviolett bei der Gram'schen Methode eine sehr schöne Doppelfärbung der Schnittpräparate. Man sieht nun die einzelnen Stäbchen als sehr feine gerade Striche, vergleichbar nadelförmigen Krystallen, von einer Länge von 0,8—1,0 μ und einer Breite von 0,1—0,2 μ. Dieselben liegen im ungefärbten Präparate vollständig unbeweglich. Auch Sporen können innerhalb der Stäbchen beobachtet werden.

Einer weiteren Prüfung bezüglich ihres Verhaltens zu Nährsubstanzen wurden die Mäusesepticämiebacillen von Gaffky und Löffler (Mittheilungen a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I. S. 80 und 135) unterworfen. Sie waren in der Lage, das ganz charakteristische Wachsthum in der Gelatine zu verfolgen. Auf deren Oberfläche entwickeln sich die Culturen niemals, ja selbst unter Sauerstoffabschluss kommen sie zur Entfaltung. Ohne jede Verflüssigung kann man in der Stichcultur, ausgehend vom Impfstich, ein verästeltes oder wurzelförmiges bis wolkig getrübtes Aussehen der Culturen nach einigen Tagen constatiren, ein grau-weisser Farbenton lässt die feinen Striche leicht von der gelblichen Gelatine unterscheiden. Als runde Einzelcolonie treten diese Bacillen niemals auf, vielmehr sieht man um den Keim herum ebenfalls eine wurzelförmige Ausbreitung auf beschränktem kleinen Raum in der Gelatine der Platte. Auf Agar-Agar ist das Wachsthum wenig charakteristisch, auf Kartoffeln und Blutserum entwickeln sich dieselben überhaupt nicht.

Die gleiche Krankheit wird mit den Culturen wie mit der erwähnten Faulflüssigkeit erzeugt bei den Hausmäusen. Meerschweinchen verhalten sich dagegen ganz unempfänglich, Kaninchen erliegen ebenfalls. Einen der Mäuse-

Digitized by Google

septicämie ähnlichen Bacillus konnte BIENSTOCK in den Faeces der Menschen nachweisen.

12. Mit dem Bacillus der Mäusesepticämie besitzt sehr grosse Aehnlichkeit in seinem morphologischen wie biologischen Verhalten der von LÖFFLER und SCHÜTZ (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I. Heft 1 u. 2. 1885) gefundene Bacillus des Schweinerothlaufs (s. Taf. Fig. 33), welcher sich in den Organen, besonders der Milz und Lunge, weniger zahlreich im Blute von an Rothlauf gestorbenen Schweinen nachweisen lässt.

Die mikroskopische Beobachtung sowie die Züchtungsversuche liefern genau dieselben Resultate, wie sie soeben von den Bacillen der Mäusesepticämie berichtet worden sind. SCHÜTZ giebt als zweckmässigste Farblösungen an 2½ prozentige Gentianaviolettlösung und das LÖFFLER'sche schwache alkalische Methylenblaugemisch (30,0 Methylenblau auf 100,0 von 0,01 prozentiger Kalilauge).

Es wurde durch Uebertragung dieses Bacillus auf gesunde Schweine der Beweis geliefert, dass es sich hier um die Ursache der verheerenden Seuche, des Schweinerothlaufs, handelte. Die Schweine erkrankten sehr bald und starben unter den die Krankheit charakterisirenden Befunden, besonders gelang der Nachweis der Bacillen im ganzen Organismus, in den einzelnen Organen waren dieselben in verschiedenen Mengen vorhanden.

Die mit den aus an Rothlauf verstorbenen Schweinen gewonnenen Reinculturen inficirten Mäuse und Kaninchen starben innerhalb einiger Tage und zeigten den oben beschriebenen Befund.

13. Eine der Mäusesepticämie entsprechende septicämische Erkrankung wurde von GAFFKY (Mittheil. a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I.) bei Kaninchen erzeugt ebenfalls durch Impfung mit Faulflüssigkeit oder Pankewasser in eine Hauttasche des Kaninchenohres. Von der Impfstelle ausgehend tritt eine fortschreitende Entzündung mit Oedembildung nach kurzer Zeit ein und es erfolgt von da aus eine allgemeine Durchseuchung, die Thiere sterben nach 1—2 Tagen. Ohne sichtbare Veränderungen — die Milz ist ein wenig vergrössert — kann man in den Organen, besonders Lungen und Nieren, sowie im Blut verschieden reichlich eine Form von Bacillen nachweisen, die GAFFKY mit dem Namen Bacillen der Kaninchensepticämie (s. Taf. Fig. 34) belegt hat. Uebertragungen vom Blut der gestorbenen Thiere auf andere Kaninchen oder auf Mäuse haben auch den Tod derselben zur Folge mit genau denselben Sectionsbefunden, wie eben beschrieben.

Der Bacillus genannter Erkrankung ist öfter schon als Micrococcus angesehen worden, dank seiner Eigenschaft den Farbstoffen gegenüber. Als kurzes Stäbchen besitzt er ziemlich stark abgerundete Enden und ist im lebenden Zustand unbeweglich. Die Anilinfarben bewirken bei ihm keine gleichmässige Färbung, sondern die abgerundeten Enden haben die Farbe stark angenommen, während das Mittelstück gewissermassen ein Verbindungsstück darstellend ungefärbt geblieben ist. Auf diese Weise bekommt man den Eindruck zweier verbundener Kokken, die aber in Wirklichkeit nur die Endstücke eines Bacillus sind. Als solchen könnte man ihn mit einer Hantel vergleichen.

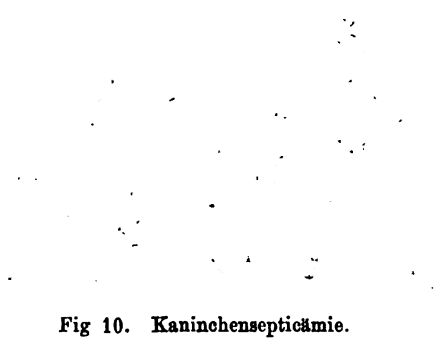


Fig 10. Kaninchensepticämie.

Digitized by Google

Die GRAM'sche Methode der isolirten Färbung lässt öfter im Stich, jedenfalls halten die Kaninchensepticämiebacillen den violetten Farbstoff nach der Jodbehandlung nicht allzu lange.

Diese Bacillen wachsen auf Kartoffeln, Agar-Agar, Blutserum nur sehr spärlich oder gar nicht, hingegen haben die Gelatineculturen eine leicht unterscheidbare Form. In der Gelatineplatte sieht man sie als kleine weisse, gekörnte, mit unebenem Rande versehene Einzelcolonien, die in der Stichcultur zu einem feinen, durchsichtigen, weisslichen Strich zusammenfliessen, in dem man aber bei genauer Betrachtung die einzelnen unterscheiden kann. Eine Verflüssigung der Gelatine bewirken die Culturen nicht, sie entwickeln sich aber auch nicht, wenn der Sauerstoffzutritt verhindert ist.

Mit den Bacillen der Reinculturen vermag man am Kaninchen und der Maus die nämliche Erkrankung wieder hervorzubringen.

14. [Eine sehr grosse Aehnlichkeit mit den Bacterien der Kaninchensepticämie haben ferner die von LÖFFLER entdeckten (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. I. S. 46) und von SCHÜTZ (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Heft II. S. 376) näher untersuchten Bacterien der Schweineseuche, einer ebenfalls zuerst durch LÖFFLER vom Rothlauf der Schweine abgetrennten Krankheitsform.

Diese Bacterien besitzen eine ovale Form, sind 0,0012 mm lang und 0,0004 bis 0,0005 mm breit, bei rascher Theilung und Vermehrung meist kleiner, durch Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin u. s. w. leicht, aber ebenfalls nur an den Polen zu färben und zeigen deutlich ein ungefärbtes Mittelstück. Sie finden sich im Blute und allen Organen und zwar um so reichlicher, je länger das betreffende Impfthier gelebt hat. In Impfstichen bilden sie zunächst längs derselben weisse, punktförmige Colonien, die schliesslich eine zusammenhängende grauweisse Schicht bilden, welche aussen wiederum mit punktförmigen Colonien besetzt ist. Um die Einstichstelle bilden sie einen grauweissen, niemals die Gelatine verflüssigenden Wall. Subcutane Impfungen mit Reinculturen bei Mäusen, Kaninchen und Schweinen bewirkten unter den Erscheinungen der Septicämie und denen eines entzündlichen Oedems an der Impfstelle den Tod der betreffenden Impfthiere in 24—48 Stunden. Ganz dasselbe Bacterium fand SCHÜTZ in den pneumonischen Herden von Lungen solcher Schweine, welche an einer endemisch auftretenden, multiplen, mortificirenden Pneumonie verendet waren, züchtete dieselben in Reinculturen und konnte durch intrapulmonale Impfungen sowie Inhalationen derselben bei Schweinen dieselbe pneumonische Affection erzeugen. SCHÜTZ hält es für ziemlich sicher, dass die Bacterien der Schweinseuche identisch mit denen der GAFFKY'schen Kaninchensepticämie seien. J.]

15. Vielleicht ebenfalls identisch mit dem beschriebenen Bacterium der Kaninchensepticämie ist der von PASTEUR (Sur la cholera des poules. Compt. rendus. T. 90. 1880) näher in seinen Eigenschaften erforschte Mikroorganismus, wie er bei jener verheerenden Hühnerseuche, cholera des poules, als Ursache hingestellt worden ist, der Bacillus der Hühnercholera (s. Taf. Fig. 35).

Dieser Mikroorganismus ist ein facultativer Parasit und wird jedenfalls da, wo er aus dem kranken Thier mit dem Koth u. s. w. ausgeschieden worden ist, lebensfähig durch zusagende Nährsubstanzen erhalten bleiben. Von da wird er von dem Geflügel wieder mit der Nahrung oder sonst aufgenommen und verursacht unter den Hühnern, Tauben u. s. w., auch bei Kaninchen, Mäusen eine verheerende Krankheit. Dieselbe beginnt mit verminderter Fresslust, es tritt grosse Schwäche und Schlafsucht auf, das Thier lässt die Flügel hängen und das Gefieder ist struppig, währenddem entwickelt sich eine heftige Diarrhoe und Erbrechen, bis der Tod meist nach 1—2 Tagen eintritt. Bei der Section sieht man die Musculatur speckig entartet und eine hämorrhagische Entzündung des Darmes. Ueberall in Organen und im Blut stösst man auf kleine, an den

Digitized by Google

Enden abgerundete Bacillen, die gefärbt die Hantelform annehmen. Der Koth, die erbrochene Flüssigkeit, das Blut sind für neue Infectionen anderer Thiere sehr geeignet.

Ueber die morphologischen und biologischen Eigenthümlichkeiten gilt das von dem Bacillus der Kaninchensepticämie Gesagte. Es mag nur noch hinzugefügt werden, dass die besten und reichlichsten Culturen in steriler, neutraler Hühnerbouillon gezüchtet werden. Die cultivirten Bacillen sind gleichfalls höchst virulent und rufen dieselbe Krankheit hervor.

Mit diesem Hühnercholerabacillus hat PASTEUR seine Versuche über Abschwächung der Virulenz begonnen und die Erfahrungen dann auf das Milzbrandvirus übertragen. Durch Stehen an der Luft verringerte sich die Infectiosität der Cultur und er konnte mit derselben keine eigentliche Hühnercholera, sondern nur eine in Genesung übergehende Krankheit erzeugen. Solche Thiere, die die leichte Form überstanden hatten, zeigten sich dann immun gegen das unveränderte frische Virus. Auch mittelst Filtration durch Thonzellen vermochte PASTEUR die virulente Bacteriencultur zu trennen in unveränderte Bacillenmasse und in ein bei weitem weniger gefährliches Filtrat, das nur den Sopor des Thieres verursachte, dem dann Genesung folgte. Dieser Vorgang bei der Filtration weist darauf hin, dass, da das Filtrat auch krankmachende Wirkung besass, von den Bacterien wohl eine giftige Substanz gebildet werden muss.

Als ein Zeichen der Immunität wurde ein an der Impfstelle entstandenes nekrotisches Gewebsstück betrachtet, das man mit dem Namen eines „Sequesters" belegte.

16. [Bei einer unter den Rindern und Schweinen einer gewissen Localität vorkommenden, seuchenhaft auftretenden Krankheit, jedenfalls identisch mit der von BOLLINGER als „Wild- und Rinderseuche" bezeichneten, von dem genannten Autor, FRANK, FRIEDBERGER u. A. auch in epidemischer Verbreitung unter dem Wildstand, und von diesem auf Pferde, Rinder, Schweine, Schafe und Kaninchen übertragbaren, hochgradig infectiösen Krankheitsform hat KITT (Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphologie u. Physiologie zu München v. 10. Nov. 1885) ebenfalls einen ähnlichen exquisit pathogenen, specifischen Mikroorganismus gefunden.

In dem Blute der spontan und der in Folge von 14 Impfungen erkrankten Thiere (Mäuse, Kaninchen, Tauben, Schweine, Ziegen, Pferde, Kühe) fand er sehr zahlreiche, 0,00065 mm lange und ca. halb so breite, durch die bekannten Anilinfarben leicht, aber nur an den Enden tingirbare Bacterien, die sich von denen der Schweineseuche von LÖFFLER-SCHÜTZ dadurch unterscheiden, dass sie auch für Tauben infectiös und, wie JOHNE (Fortschr. d. Med. IV. S. 416) auf Grund seiner Untersuchungen constatirt, grösser wie diese waren.

In Plattenculturen bilden die Bacterien weissliche, hyaline, knorpelähnliche, nicht verflüssigende Oberflächenculturen, auf Kartoffeln grauweisse, prominente Rasen. Cutane Impfungen mit Blut oder daraus gewonnenen Reinculturen bewirken bei oben genannten Thieren binnen 18—24 Stunden sicher den Tod. J.]

17. Von der weitgehendsten Bedeutung war für die gesammte medicinische Wissenschaft die Entdeckung des Erregers der Tuberkulose in der Gestalt des *bacillus tuberculosis* (s. Taf. Fig. 21). R. KOCH (Die Aetiologie der Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr. 1882 u. Mittheil. a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. II. 1884), dem dieselbe zu verdanken ist, hat damit allen früheren, wichtigen Aufschlüssen auf dem dunklen Gebiet der Aetiologie der Infectionskrankheiten die Krone aufgesetzt und mit vollem Rechte kann man diese Leistung als die beste Probe für den Werth seiner Methoden ansehen.

Die als Tuberkulose bekannte Krankheit betrifft ausser den Menschen eine grosse Zahl von Warmblütern, als Affen, Rinder — man nennt sie hier Perl-

Digitized by Google

sucht —, Schafe, Pferde, Kaninchen, Meerschweinchen, Feldmäuse — die Hausmaus ist wenig empfänglich — u. s. w. Die meisten Theile des Körpers können von ihr befallen werden und man spricht demnach von Lungen-, Bauchfell-, Darm-, Nieren- u. s. w. Tuberkulose. Eine allgemeine Ausbreitung über alle Organe bildet die Miliartuberkulose, die Scrophulose; auch die Gelenke werden von ihr in der Form von fungösen Entzündungen betroffen, selbst die Haut zeigt auf Tuberkulose zurückzuführende Leiden, den Lupus u. s. f. Es würde zu weit führen, die einzelnen Formen tuberkulöser Erkrankungen aufzuführen, es muss über diesen Punkt auf die einschlagenden Capitel der pathologischen Anatomie verwiesen werden.

Bei allen diesen angeführten, mannigfachen Formen der Tuberkulose fand Koch den Tuberkelbacillus, ein in seinem morphologischen, wie biologischen Verhalten wohl charakterisirtes Bacterium. Um ihn kenntlich zu machen, müssen erst besondere Methoden der Färbung zu Hilfe genommen werden, da er im ungefärbten, wie auch im einfach gefärbten Präparat leicht übersehen oder mit anderen Bacterien verwechselt werden kann. Eine derartige Färbemethode gefunden zu haben, ist das grosse Verdienst von Koch und Ehrlich. Der Tuberkelbacillus hat die ihm und nur noch den Bacillen der Lepra zukommende Eigenthümlichkeit gegenüber anderen Mikroorganismen, alkalische Anilinfarblösungen langsam anzunehmen, sie dann aber auch selbst den alles entfärbenden starken Mineralsäuren gegenüber festzuhalten. Die Aufnahme des Farbstoffes kann etwas beschleunigt werden durch Erwärmung des Präparates in der Farblösung. Im einzelnen ist die Koch-Ehrlich'sche Methode bereits im I. Theil dieses Werkchens S. 28 genau beschrieben und kann hier darauf verwiesen werden. Auf diese Weise hat man die Bacillen violett resp. roth und das Gewebe u. s. w. braun resp. hellblau vor sich.

Fig. 11. Tuberkulose.

Nicht nur in den Schnitten aus tuberkulösen Organen, sondern auch in den entleerten Sputis, dem Urin, dem Darminhalt, dem Eiter u. s. w. der entsprechend Erkrankten kann man auf diese Weise die Tuberkelbacillen in Trocken- oder Deckglaspräparaten nachweisen. Ihre Zahl entspricht in den einzelnen Fällen durchaus nicht der Schwere der Erkrankungen.

Im Blut sind sie bisher nur bei der acuten, miliaren Tuberkulose in geringer Anzahl zu finden gewesen, vielleicht dann, wenn ein tuberkulöser Herd in die Blutbahn durchgebrochen war.

Im Anschluss an das Koch-Ehrlich'sche Verfahren sind später eine ganze Reihe anderer Methoden empfohlen worden, die in der Hauptsache nur Modificationen des bewährten ersten Verfahrens darstellen. So ist statt Anilinölwasser nach Ziehl-Neelsen Carbolsäure anzuwenden und zur Entfärbung Schwefelsäure von Neelsen, Salzsäure von Orth, Eisessig von Petri, salpetersaurer Alkohol von Rindfleisch, salzsaurer Alkohol von Orth u. s. w. empfohlen.

Die vegetativen Zellen sind sehr dünne, verhältnissmässig lange (2—5 μ) Stäbchen, die öfter etwas gekrümmt erscheinen. Eine Quertheilung derselben

Digitized by Google

sieht man in der Regel nicht, jedoch kann man öfter eine unregelmässige Körnung der gefärbten Bacillen wahrnehmen, die vielleicht zur Annahme von Kokkenformen den Anlass gegeben haben. Den endosporen Vorgang hat Koch ebenfalls beobachten können, und zwar kommt es vor, dass zuweilen schon im Thierkörper, meist aber im Sputum sich die Dauerformen als ovale Körper innerhalb der Bacillen zeigen. Ein Bacillus kann auch mehr als eine Spore enthalten. Eine Eigenbewegung der Tuberkelbacillen hat der genannte Forscher niemals gesehen.

Da, wie man annehmen muss, der Tuberkelbacillus ein obligater Parasit ist, so darf es nicht Wunder nehmen, dass seine Züchtung auf den meisten Nährböden fehlschlägt. Mit Ausnahme des Blutserums verschmäht er alle Nährsubstanzen und auch auf diesen ist seine Züchtung eine subtile, da die Temperaturgrenzen seiner Vegetation ausserordentlich eng gezogen sind. Am besten gedeiht eine Cultur bei 37—38° C., unter 30° und über 42° hört das Wachsthum schon auf. Die Schwierigkeit der Cultivirung liegt nicht zum geringsten Theil in der langsamen Entwickelung seiner Colonien, während welcher Zeit dieselben von zufällig oder mit den Instrumenten eingebrachten anderen Bacterien längst überwuchert sind. Es empfiehlt sich aus einem frisch entnommenen tuberkulösen Organ ein distinctes Knötchen mit geglühten Instrumenten herauszuschneiden und dasselbe zwischen zwei sterilen Glasplatten zu zerdrücken; von dem Material sind ganze Serien von Culturen anzulegen und dann in dem Brütofen zu halten, einige werden doch vielleicht nur Keime von Tuberkelbacillen erhalten haben.

Auf der schräg erstarrten Oberfläche des Blutserums im Reagensglas sind am Ende der ersten Woche, meist erst am 10. bis 15. Tage, die ersten Anfänge von Entwickelung der Colonien wahrzunehmen. Es entstehen dann mit blossem Auge wahrzunehmende mattweisse Pünktchen, die sich nach und nach zu Schuppen heranbilden. Als solche bedecken sie in dünnem grauweissem Ueberzug die ganze Oberfläche. Bei der mikroskopischen Prüfung bestehen die Schüppchen aus bogig gekrümmten, durcheinander gewirrten Linien von sporenhaltigen Bacillen. Länger als vier Wochen nimmt die Entwickelung der Culturen nicht zu, erreicht also dann ihr Maximum.

Gegen äussere Einflüsse scheint der Tuberkelbacillus grosse Widerstandsfähigkeit zu besitzen. Er erträgt, ohne seine Virulenz einzubüssen, sehr hohe Temperaturen, längere Austrocknung; der die meisten Bacterien vernichtende saure Magensaft, sowie die umgebenden Fäulnissvorgänge beeinflussen ihn lange Zeit nicht. Ob es sich hier nicht vielmehr um die Widerstandsfähigkeit der Sporen handelt nach Analogie anderer, ist nicht klar gestellt.

Mit diesen Eigenschaften versehen vermögen die Tuberkelbacillen leicht neue Infectionen herbeizuführen, und man wird sich die grosse Masse tuberkulöser Erkrankungen wohl erklären können, wenn man bedenkt, wie viel lebensfähige Keime in den Abfällen der Kranken stetig mit der Aussenwelt in Berührung gebracht werden. Freilich ist nicht zu leugnen, dass bei der Infection die Empfänglichkeit der einzelnen Individuen eine Rolle spielen wird und wohl ganz besonders wird hier in Frage kommen, ob dem eingebrachten Bacillus ein zur Invasion geeigneter Boden geboten ist, d. h. ob Erkrankungen bestehen, die das Durchdringen der Schleimhäute u. s. w. ermöglichen.

Den Beweis dafür, dass es sich bei dem Tuberkelbacillus wirklich um den Erreger der tuberkulösen Erkrankungen handelte, erbrachte Koch in glänzendster Weise, indem er 217 Versuchsthiere der nachgewiesenermassen empfänglichen Species mit Tuberkelmaterial aus Sputum, Organen und besonders Reinculturen inficirte. Der Infectionsmodus (Impfung, Injection, Inhalation) sowie der Ort der Einverleibung spielt dabei eine nur in gewissem Grade bemerkbare Rolle: die Durchseuchung geschieht in der Regel erst nach zwei bis

Digitized by Google

acht Wochen und zwar geschieht die Tuberkelknötchenbildung immer zuerst in den der Impfstelle nahegelegenen Organen. Allemal aber wurde die Tuberkelbildung durch die Impfung hervorgebracht und in den Tuberkeln wurden regelmässig die Tuberkelbacillen gefunden.

Von hohem wissenschaftlichen Interesse ist noch ganz besonders der Vorgang der Infection von der Impfstelle aus, ingleichen die Beziehungen der Riesenzellenbildung zu den Bacillen, doch über diese und viele andere Punkte zu sprechen liegt nicht im Rahmen dieses Anhanges.

18. An die Besprechung des Tuberkelbacillus schliesst sich wegen seines ähnlichen Verhaltens bei der Färbung der *Bacillus Leprae* an. Derselbe wurde von HANSEN (Virchow's Archiv. Bd. 79 u. 90) in allen von dem leprösen Processe veränderten Theilen besonders in den dabei gebildeten frischen Knoten gefunden, Angaben die ECKLUND und NEISSER (Vierteljahrschrift für Dermatolog. 1880) voll bestätigten. Es sind dies bewegliche schlanke Stäbchen, die etwas länger als die Tuberkelbacillen erscheinen.

Wie schon erwähnt färben sich die Leprabacillen nach der Methode für die Tuberkelbacillen, d. h. sie verlieren in der Säurebehandlung nicht den Farbstoff. Die Differenzialdiagnose kann aber den Umstand verwerthen, dass die Leprabacillen den Farbstoff etwas leichter aufnehmen, nach BAUMGARTEN genügt bei Schnitten eine Viertelstunde und bei Deckglaspräparaten 6—7 Minuten langes Liegen in der ersten Farbflüssigkeit. In dieser Zeit haben Tuberkelbacillen den Farbstoff noch nicht aufgenommen, die Leprabacillen hingegen ganz gut. Sie zeigen ebenfalls endospore Bildung und zwar können in einem Stäbchen 2—3 Sporen enthalten sein.

Ihre isolirte Züchtung auf festem Nährmaterial ist bis jetzt noch nicht mit Sicherheit als gelungen zu betrachten. Ebensowenig ist die experimentelle Uebertragung der Lepra auf Thiere noch nicht sicher gestellt; eine erfolgreiche Impfung wird von DAMSCH und VOSSIUS neuerdings berichtet, ihre Bestätigung bleibt abzuwarten.

19. Durch die Auffindung des *bacillus mallei* (Taf. Fig. 29) durch LÖFFLER und SCHÜTZ (Deutsche med. Wochenschrift 1882. Nr. 52; Arbeiten a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. 1886. Heft II. S. 141), bestätigt durch die Angabe von ISRAEL, in den Rotzknötchen der Pferde war auch die durch Erfahrung gewonnene Annahme von der Infectiosität des Rotzes erwiesen, zumal da auch die Wiedererzeugung der Krankheit den genannten Autoren gelungen war. Im Pusteleiter und Nasensecret einer Kranken konnte WEICHSELBAUM (Wiener medic. Wochenschr. 1885. Nr. 21—24) die Rotzbacillen ebenfalls nachweisen. Die vegetativen Zellen sind Stäbchen von der Länge der Tuberkelbacillen, aber breiter als dieselben (2—5 : 0,5—1,4 μ).

Sie sind mit grosser Beweglichkeit und endogener Sporenbildung ausgerüstet und zeigen grosse Neigung sich, zu zweien zusammen einen Winkel bildend, aneinander zu legen. Die gewöhnlichen alkoholisch verdünnten Lösungen der Anilinfarben vermögen sie nur schwach zu tingiren.

[Nach LÖFFLER's neuester Publication ist die beste Färbemethode für Deckgläschenpräparate die mit einer frisch bereiteten Mischung von ca. 3 ccm einer Lösung von Kali 1 : 10000 mit 1 ccm conc. alkoholischer Methylenblau-, Gentianaviolett- oder Fuchsinlösung; oder mit einer der bekannten Anilinwasser-Tuberkelbacillen-Farbflüssigkeit, die mit der gleichen Menge Kali 1 : 10000, resp. ½ prozentiger wässriger Lösung von Liqu. Ammonii caustici vermischt wird. Nach etwa 5 Minuten langer Einwirkung des Farbstoffes taucht man die Deckgläschen in eine 1prozentige Essigsäure, der man so viel einer wässrigen Lösung von Trapaeolin 00 zugesetzt hat, dass sie eine rheinweingelbe Farbe bekommt, dann wird mit destillirtem Wasser abgespült u. s. w.

Schnitte lässt man in ersterer Farbflüssigkeit 2—4 Minuten, in der letzteren

Digitized by Google

¼—½ Stunde, bringt sie dann ca. 5 Secunden je nach Dicke des Schnittes in eine aus 10 ccm Aqu. destill., 2 Tropfen conc. schwefliger Säure und 1 Tropfen 5 prozentiger Oxalsäure bestehende Mischung, dann in absoluten Alkohol, Cedernöl u. s. w. J.]

Die Reinculturen der Rotzbacillen sind Löffler und Schütz nur auf Blutserum und Kartoffeln gelungen, während Weichselbaum auch in flüssiger Gelatine und auf Agar-Agar Züchtungen derselben hat vornehmen können, freilich war zur Entwickelung unbedingt die Brütofentemperatur erforderlich und selbst da ist ihre Vegetation eine verhältnissmässig langsame.

Auf der Kartoffel sieht man bei einer Temperatur von 37—38° C. nach 2—3 Tagen eine bräunliche Auflagerung entsprechend der Ausbreitung bei der Impfung entstehen, die einer Reincultur der Rotzbacillen entspricht. Auf Blutserum wachsen die Colonien nach 3—4 Tagen zu zahlreichen, zerstreuten, durchsichtigen Tröpfchen aus, die später eine wasserhelle zusammenfliessende Masse darstellen. Auch auf Agar-Agar sieht man nach zwei Tagen der Impfstelle entsprechend tropfenartige grauweisse, durchsichtige Auflagerung sich bilden, während in der flüssigen Gelatine fadenziehende, weissliche Nebel wahrzunehmen sind.

[Das Temperatur-Optimum der Entwickelung der Rotzbacillen liegt nach Löffler's Untersuchungen zwischen +30 und +40°, bei +20° fand kein Wachsthum mehr statt. Die von manchen Beobachtern angenommene Sporenbildung soll nach Löffler als ein Absterbe-Phänomen, nach Csokos (Fortschr. d. Med. IV. S. 314) als Theilungserscheinung aufzufassen sein. Weiter wurde von Löffler ermittelt, dass die Entwickelungsfähigkeit eintrocknender Rotzbacillen 3 Monate lang erhalten bleiben könne, dass dieselben aber in der Regel schon in den ersten Wochen des Eintrocknens unwirksam wurden. Kochendes Wasser, 3—5 prozentige Carbol- und 1 prozentige Sublimatlösung erwiesen sich als vollkommen sichere Desinfectionsmittel. J.]

Wie schon längst bekannt, kann die Rotzerkrankung vom Pferde auf den Menschen und umgekehrt erfolgen, aber auch die Impfungen aus den Reinculturen verursachten eine typische Rotzerkrankung bei allen Versuchsthieren mit Ausnahme der Hausmäuse, welche sich vollständig refractär zeigten. Insbesondere konnten Löffler und Schütz bei Pferden durch Einbringung von den cultivirten Bacillen den Process in seiner ganzen Schwere hervorrufen, in den entstandenen Knoten und Abscessen waren die Bacillen in reichlicher Menge zu sehen. [Nach weiteren Versuchen, die Löffler angestellt hat, erwiesen sich weisse Mäuse und Ratten nahezu immun gegen Rotzimpfungen, während hierauf Feldmäuse in ausserordentlich prompter und intensiver Weise und unter allen bisher verwendeten Versuchsthieren am raschesten reagiren. J.] Die Ausbreitung der Krankheit erfolgt allerdings langsam, so erliegen die Meerschweinchen erst nach 6—8 Wochen derselben. Weichselbaum vermochte in den knotigen und ulcerirenden Localaffectionen der Versuchsthiere ebenfalls die Bacillen nachzuweisen, aber auch im Blut und Urin waren sie vorhanden sowohl bei den Kranken, als auch bei den Versuchsthieren. — [Zu diagnostischen Rotzimpfungen werden von Löffler männliche Meerschweinchen empfohlen, von welchen man 3—5 Stück mit dem verdächtigen Secret (Nasenschleim) in Hauttaschen impfen soll. Einige der Versuchsthiere würden sicher innerhalb 14 Tagen ausgesprochene Rotzsymptome zeigen. J.]

20. Nach dem Auftreten des typhus abdominalis war man geneigt Beziehungen der Erkrankungen zu den Oertlichkeiten und besonders zu dem Trinkwasser anzunehmen. In den Typhusleichen hatte man auch schon Bacterien gefunden und besonders Eberth war es, der einen bestimmten *bacillus typhosus* (s. Taf. Fig. 27) in den afficirten Organen immer wiederfand. Der Fund wurde bestätigt von Klebs (Die Organismen in den Organen bei typhus abdominalis,

Digitized by Google

Archiv f. path. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med. Bd. 81. 1880), KOCH, MEYER (Der Typhusbacillus und die intestinale Infection. VOLKMAN, klinische Vorträge 1883. Nr. 220) und durch die Forschungen von GAFFKY (Zur Aetiologie des Abdominaltyphus. Mitth. a. d. kaiserl. Gesund.-Amt. Bd. II. 1884). Letzterer hat gelegentlich einer Typhusepidemie Beobachtungen über die in den Organen vorhandenen Mikroorganismen angestellt und konnte in 26 von 28 Fällen ein gleich näher zu beschreibendes Stäbchen wiederfinden in den Mesenterialdrüsen, Leber, Milz und Nieren. Jedoch ist zu beachten, dass die Bacillen am ehesten in solchen Cadavern zu Gesicht kommen werden, die in frühen Stadien der Typhuserkrankung zur Section kommen, in späteren Zeiten sind dieselben schwer von der Unmasse anderer zu trennen. Im Blut und Darminhalt konnte GAFFKY dieselben nicht nachweisen.

Die Einzelindividuen der Typhusbacillen sind lange dünne (2,5 : 0,8 μ), sehr bewegliche Stäbchen, die zu sehr langen Fäden in den Culturen auswachsen können und als solche dann schlangenartige Bewegungen zeigen. Unter den gewöhnlichen Verhältnissen kommt es nicht zur Sporenbildung, dagegen bei Körpertemperatur kann man nach 3 — 4 Tagen endogene endständige Sporen wahrnehmen. Sie haben die Eigenschaft anderen Bacterien gegenüber, die Anilinfarbstoffe selbst bei der Erwärmung nur schwach anzunehmen. Nach GAFFKY wird die beste Färbung erreicht, wenn man die Deckglaspräparate mit alkalischer Methylenblaulösung behandelt, da sie nach GRAM'scher Methode die Farbe ebenfalls wieder abgeben. Die Schnitte bleiben am zweckmässigsten einen Tag lang in einer tiefblauen undurchsichtigen Lösung, welche durch Eingiessen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Methylenblau in destillirtes Wasser jedesmal frisch bereitet wird. Alsdann wäscht man die Schnitte in säurefreiem Wasser ab, entwässert in Alkohol u. s. w. wie gewöhnlich.

Die Züchtung ist auf allen gebräuchlichen festen durchsichtigen Nährböden zu erreichen und von GAFFKY als Unterscheidungsmerkmal angegeben worden. Der Typhusbacillus wächst nur unter freier Sauerstoffzufuhr zu Colonien aus, die die von anderen verflüssigten Nährböden nicht zu verflüssigen vermögen. Die Gelatineplatten haben ein ganz eigenthümlich getrübtes Aussehen der ausgebreiteten Gelatine, die sich bei schwacher Vergrösserung aus kleinen mit zackigen Rändern versehenen grauweissen Colonien zusammengesetzt erweist. In der Stichcultur ist längs des Impfstiches ein grauweisser Streifen nach einigen Tagen zu bemerken, der sehr spärlich gegenüber der nach und nach sich entwickelnden Oberflächenausbreitung sich ausnimmt. Auf der Oberfläche entsteht um den Einstich herum ein graublauer Belag mit ausgezackten Rändern.

Auf der schrägerstarrten Oberfläche des Agar-Agar und Blutserums ist die entwickelte Cultur als ein milchig-weisser Belag wahrzunehmen.

Die Kartoffelcultur ist am ehesten neben der Gelatinecultur zur Differenzirung von anderen zu verwerthen. Bei Körpertemperatur ist die Typhusbacillencultur zu einem wässerigen durchsichtigen, bei Berührung fadenziehenden Belag ausgewachsen, wie ihn kein anderes jetzt gekanntes Bacterium hervorbringt. Der Belag ist zusammengesetzt aus langen Fäden der sporenhaltigen Bacillen.

Trotzdem dass mit diesen Bacillen bei Thieren eine typhusartige Erkrankung von GAFFKY nicht hervorgebracht werden konnte, was er aus der Immunität der benutzten Thierspecies zu erklären suchte, stellt er doch dieses Bacterium als die alleinige Ursache der Typhusinfection hin und stützt seine Ansicht auf das annähernd regelmässige Vorkommen und auf die charakteristischen morphologischen wie biologischen Eigenschaften der Bacillen.

Es lag sehr nahe, die Wässer der Typhusherde auf den Gehalt der genannten Bacillen zu untersuchen, bis jetzt ist dieser Nachweis aber erst MICHAEL (in JOHNE's Laboratorium — Fortschr. d. Med. IV. Heft 11) und MÖRS

Digitized by Google

(Ergänzungsheft zum Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege. Bd. II. Heft 2) gelungen.

In neuester Zeit ist von PFEIFER-Wiesbaden (Deutsche medicin. Wochenschrift 1885. Nr. 29) über den Nachweis der Typhusbacillen im Darminhalt wie in den entleerten Faeces berichtet worden. Die Bestätigung dieses bleibt abzuwarten, dasselbe gilt für die von FRÄNKEL (Centralblatt für klin. Medicin 1885. Nr. 44 und die Monographie darüber 1886) und SIMMONDS mitgetheilten erfolgreichen Uebertragungen der Bacillen auf Thiere.

21. Als Infectionskrankheit mit miasmatischem Charakter gilt die Malariakrankheit, das Wechselfieber, welches am häufigsten in Gegenden vorkommt, wo Sumpf- oder stagnirende Gewässer sich befinden. Längst schon hat man in diesen letztern die causalen Beziehungen zur Erkrankung gesucht, aber bis heute noch nicht sicher bewiesen, da die zu erwähnenden Resultate der Forschungen noch manchen Einwand zulassen. Eine Ansteckung von Person auf Person ist aber sicher in Abrede zu stellen.

In dem Boden und Wasser von Malariagegenden Italiens kommen nach KLEBS und TOMMASI-CRUDELI (Studien über die Ursache des Wechselfiebers u. s. w. Archiv für exp. Pathologie, Bd. XI.) Bacterien vor, die die Gestalt von Stäbchen von ziemlicher Länge (7 μ) und geringer Breite (1 μ), auch Fadenform haben, deren Sporen gleichfalls als ovale Körper beschrieben worden sind. Man nennt dieses Stäbchen den *bacillus malariae*. Derselbe wurde in Objectträger-Culturen zum Wachsen gebracht.

Viele Forscher berichten nun auch von einem Bacterienfund im Blut und in der Milz des Menschen während des beginnenden Fieberanfalls.

Zum Beweise, dass man es mit den Erregern des Wechselfiebers zu thun hatte, wurden Bodenproben sowohl, wie auch Culturmaterial verschiedenen Thieren beigebracht und die Angaben über die Resultate lauten dahin, dass man an den Thieren das typische intermittirende Fieber bei gleichzeitigem Milztumor wiederfinden konnte. CUBONI und MARCHIAFAVA wollen sogar durch Uebertragen von Blut eines im Fieberanfall befindlichen Menschen auf Thiere die Krankheit hervorgerufen haben.

Aus diesen Ergebnissen ist jedenfalls der Schluss noch nicht berechtigt, dass man in dem bacillus malariae den Erreger der Krankheit vor sich hat. Vielmehr werden weitere Untersuchungen, vor allem über die biologischen Eigenschaften der bezüglichen Bacterien erst genauere Aufschlüsse ergeben müssen.

22. Neben den früher besprochenen Streptokokken konnte LÖFFLER (Mitth. aus dem kaiserl. Gesund.-Amt Bd. II. 1884) in den Schleimhautbelägen der Diphtherie die von KLEBS vordem beobachteten Stäbchen nachweisen. Sie liegen in Haufen zusammen in den oberen Schichten der Membranen, lassen sich aber in den inneren Organen der an Diphtherie Gestorbenen niemals auffinden.

Dieselben sind etwa von gleicher Länge, aber doppelter Dicke, wie die Tuberkelbacillen, auch unbeweglich. Die aus Gliedern bestehenden Ketten derselben lassen die einzelnen Bacillen an den Enden knotig verdickt erscheinen, was bei der Färbung ihnen die Gestalt von Keulen verleiht.

Im Deckglaspräparat kann man sie durch die gewöhnliche Anilinfärbung zur Darstellung bringen, in Schnitten ist nach LÖFFLER die beste Färbung die mit alkalischem Methylenblau nebst darauffolgenden Spülen in essigsäurehaltigem Wasser. Es treten dann die Bacillen intensiv dunkelblau hervor, während das Gewebe einen lichten Farbenton angenommen hat.

Es ist dem genannten Autor gelungen, die Bacillen von den vielen die Mundhöhle und ihre Theile bewohnenden Bacterien zu trennen. Dieselben gedeihen durchaus nicht auf den gewöhnlichen festen Nährsubstraten, ja nehmen

Digitized by Google

sogar in die Gelatine gebracht ganz veränderte, vielleicht krankhafte Form an (Involutionsformen). Für sie bildet eine aus Fleischinfus, Pepton, Zucker und Blutserum hergestellte Masse das beste Nährmaterial. Bei Körpertemperatur ist auf demselben eine üppige Wucherung der Culturen binnen kürzester Frist wahrzunehmen und zwar als weisslicher Ueberzug bestehend aus einzelnen Colonien.

Die Resultate der Thierversuche waren die folgenden: Mäuse und Ratten waren vollkommen immun, Meerschweinchen und kleine Vögel bekommen hämorrhagische Oedeme in der Umgebung der Impfstelle und sterben in wenigen Tagen. Bei Kaninchen, Hühnern und Tauben werden durch die Impfung in die eröffnende Trachea oder in die Conjunctiva fibrinöse Membranen, Pseudomembranen erzeugt. In letzteren finden sich die nämlichen Bacillen, niemals aber bei der Section in inneren Organen, woraus auf eine locale Production eines für den Organismus höchst gefährlichen Giftes geschlossen werden kann. Die Frage, ob man es in dem Bacillus wirklich mit Diphtheriekeimen zu thun habe, hat Löffler mit grosser Reserve beantwortet, indem er es nur als wahrscheinlich hinstellt.

Neben der Unregelmässigkeit des Fundes bei menschlicher Diphtherie wurde die Annahme einer causalen Beziehung des Bacillus zur Diphtherie durch die Auffindung desselben Mikroorganismus in der Mundhöhle eines gesunden Kindes schon schwankend gemacht.

Bei Diphtherie der Kälber hat Löffler ebenfalls Mikrokokken und Bacillen nachgewiesen, von denen er die letzteren als die Ursache der Erkrankung auf Grund seiner Impfversuche hinstellt, während er die ersteren als den Process complicirend bezeichnet.

Die Taubendiphtherie (s. Taf. Fig. 36) wird verursacht durch einen in gewöhnlicher Gelatine zu züchtenden Bacillus, der auf die genannte Thiergattung sowie auf Sperlinge übertragen den charakteristischen Diphtherieprocess wieder hervorruft.

Dem Löffler'schen Fund vermochte Emmerich (Ueber die Ursachen der Diphtherie des Menschen und der Tauben. Deutsch. med. Wochenschr. 1884. No. 38) in seinen Untersuchungen an 8 Diphtheriefällen ein anderes Bacterium gegenüberzustellen, das sich in der Form von länglichen Kokken oder plumpen Stäbchen zeigte. Es gelang ihm die Züchtung in der Gelatine und auf Kartoffeln. Die Uebertragungen aus den Culturen hatten bei Tauben, Mäusen und Kaninchen eine typische Diphtherieerkrankung zur Folge. In wie weit diese Resultate mit den früher beschriebenen in Einklang zu bringen sind, und welche Bacterienart als die specifische anzusehen ist, das bleibt der weiteren Forschung überlassen.

23. In dem trockenen, fettig glänzenden Belag der conjunctiva bulbi bei der sogenannten *xerosis epithelialis conjunctivae* haben Kuschbert und Neisser (Deutsche med. Wochenschrift 1884. No. 21) einen *bacillus* mit bestimmten Eigenschaften entdeckt und ihm die Erzeugung der genannten Erkrankung zugeschrieben.

Diese Bacterien haben stäbchenförmige Gestalt und gleichen am ehesten den Bacillen der Mäusesepticämie, in ihrer Breite wechselnd je nach der Färbemethode. Die gewöhnlichen Anilinfarben sind zur Darstellung geeignet.

Bei Brutofentemperatur wurden auch Culturen aus den der Bindehaut entnommenen Auflagerungen auf Blutserumgelatine erzielt. Die Oberfläche der Cultur war dem Impfstriche entsprechend bedeckt mit trockenen weissglänzenden Streifen, die nur aus den geschilderten Bacillen zusammengesetzt erschienen. Die Vermehrung derselben geschah einmal durch Theilung und dann durch Sporenbildung dergestalt, dass an beiden Enden eines Bacillus kuglige Anschwellungen eintraten, die dann als Sporen frei wurden.

Digitized by Google

Die Thierversuche hatten negative Ergebnisse, ähnlich wie bei den Gonokokken. An einem Erwachsenen und mehreren Kindern wurde durch Culturmassen die fettige Trockenheit der conjunctiva bulbi, aber nicht Ablagerung der typischen Form erzielt.

Nach diesen Resultaten halten sich die genannten Forscher noch nicht berechtigt, den Bacillus als die Ursache der Xerose anzusehen.

24. Die Annahme eines infectiösen Tetanus ist nicht neu, hingegen war man einer Ursache bisher noch nicht auf die Spur gekommen, als NICOLAIER (Deutsche med. Wochenschrift 1884. No. 32) durch Einbringen von bacillenhaltiger Erde in eine angelegte Hauttasche bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen einen tetanischen Zustand zu beobachten Gelegenheit fand. Die Ursache sucht er in einem Bacterium, welches er als Tetanusbacillus beschrieben hat.

Der Verlauf der Erkrankung ist folgender: Einige Tage nach der Infection bemerkt man eine Starre des einen, alsdann auch des anderen hinteren Beines, wenn die Erde an der Schwanzwurzel zugeführt worden war. Es werden dann auch die vorderen Extremitäten ergriffen, es stellen sich Krampfanfälle ein, bis nach einiger Zeit der Tod erfolgt. Der Sectionsbefund weist makroskopisch wenig Veränderungen auf, abgesehen von wenig Eiter an der Impfstelle. Hingegen ist mikroskopisch in dem Eiter, der Umgebung der Impfstelle, im Rückenmark und Nervenscheiden unter anderen Bacterien ein Bacillus vorherrschend.

Derselbe ist ähnlich dem der Mäusesepticämie nur etwas länger und durch die gewöhnlichen Anilinfarben zur Anschauung zu bringen.

Aus dem Gemisch versuchte NICOLAIER denselben zu isoliren und zu züchten, was ihm aber nur in den tieferen Schichten des Blutserums bei Einwirkung der Brütofentemperatur gelungen ist. Und zwar wird eine Trübung wahrgenommen, die aus Bacillen zusammengesetzt sich zeigt. Durch Einimpfung von Culturmaterial, selbst des unreinen, wurde nach den Angaben der tetanische Zustand wieder erzielt.

Ob dieses Bacterium in Beziehung steht zu dem Wundtetanus, kann vorläufig noch nicht bestimmt ausgesagt werden. In dem soeben vorliegenden Berichte vom Chirurgencongress 1886 spricht ROSENBACH nach Beobachtungen an einem an Tetanus verstorbenen Mann die Identität der Bacillen von Thieren und Menschen aus.

25. WATSON-CHEYNE (Journal of the Royal Microscop. Society Ser. II. vol. V.) entdeckte in der sogenannten Faulbrut der Bienen ein bewegliches Bacterium und machte es zum Gegenstand näherer Untersuchungen, in der Bacteriologie ist es eingeführt als *bacillus alvei*.

Bestehend aus schlanken Bacillen mit abgerundeten Enden kann es durch Gentianaviolettlösung oder durch die GRAM'sche Methode noch am besten dem Auge zugänglich gemacht werden. Auch hat er in den Bacillen sehr grosse Sporen gefunden.

Die gebräuchlichen festen Nährsubstanzen können zur Züchtung benutzt werden. Die Gelatineculturen haben ein eigenthümliches Aussehen. Die Einzelcolonie in der Gelatineplatte hat eine ovale, einer Birne vergleichbare Gestalt, von dem schmälern Theil der Birne gehen Zweige aus. In der Stichcultur sieht man ein verzweigtes Oberflächenwachsthum, längs des Stiches unregelmässige Fäden, die einen Nebel hervorbringen. Später wird die Gelatine eingezogen in dem Anfang des Stiches und wird allmählich verflüssigt bei gleichzeitiger Gelbfärbung und Auftreten eines eigenthümlichen Geruchs. Die Entwicklung lässt man am besten bei einer Temperatur vor sich gehen, bei der die Gelatine gerade noch starr bleibt (20 °). Agar-Agar, Blutserum und Kartoffelfarbe lassen bei dem Wachsthum der Cultur des genannten Bacillus keine auffallenden Eigenschaften wahrnehmen, es sind die Colonien als gelbliche, weisse

Digitized by Google

Auflagerungen vorhanden; bei Körpertemperatur kommen die Bacillen zur Sporenbildung.

Bei Mäusen verursacht dieser Bacillus ein Oedem des Unterhautzellgewebes, in dem die Bacillen nachweisbar sind, innere Organe sind frei; an anderen Thieren ist eine Sicherheit bezüglich der Wirkung noch nicht vorhanden.

26. Die von HEBRA und KAPOSI zuerst beschriebene Neubildung in der Nase, das Rhinoscleroma, ist nach den Untersuchungen von v. FRISCH (Wiener med. Wochenschrift 1882. Nr. 32) wahrscheinlich zurückzuführen auf eine Infection mit specifischen Bacterien, den Bacillen des Rhinoscleroms.

v. FRISCH beschreibt dieselben als kurze, etwas weniger als doppelt so lange wie breite Stäbchen in grossen kapselförmigen Zellen gelagert, sie sind unbeweglich und färben sich am besten nach seiner Angabe in 1 % Methylenblaulösung. Nach Abspülen in Wasser wurden sie einige Stunden in ½ % kohlensaurer Kalilösung liegen gelassen und dann mit Alkohol und Oel in der gewöhnlichen Weise behandelt.

Die Cultivirung ist zwar von dem genannten Forscher als möglich in Gelatine und Blutserum hingestellt, jedoch wohl noch nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen.

v. FRISCH fasst dieses Bacterium trotz fehlgeschlagener Thierversuche als die Ursache der Neubildung auf.

Von manchen Seiten, darunter von CORNIL und ALVAREZ ist der parasitäre Charakter der Erkrankung bestätigt worden, von anderer Seite nicht.

27. Nach vielen vorhergegangenen Angaben über die Auffindung des die Syphilis erzeugenden Organismus hat LUSTGARTEN (Med. Jahrbücher der k. k. Gesellschaft der Aerzte. Wien 1885) auf Grund einer für die Syphilisbacterien als specifisch angenommenen Färbung einen Bacillus entdeckt, den er mit dem syphilitischen Process in causale Beziehungen bringt, er spricht von dem Syphilisbacillus.

In syphilitischen Neubildungen sowohl, wie in dem Eiter der primären Geschwüre ist ein den Tuberkelbacillen ausserordentlich ähnlicher Bacillus vorhanden, der die Grösse und Gestalt der erwähnten besitzt, manchmal etwas gekrümmt und an den Enden verdickt erscheint. Auch ist an ihm eine Körnung bemerkbar; in den Bacillen erscheinen sporenähnliche Gebilde. Sie sind immer in Zellen gelagert, die die doppelte Grösse der weissen Blutkörperchen haben.

Die LUSTGARTEN'sche Färbemethode ist im I. Theil dieser Abhandlung, S. 27, ausführlich wiedergegeben und braucht hier nicht wiederholt zu werden.

Andere Färbungsmethoden haben bald nach der LUSTGARTEN'schen Veröffentlichung angegeben DOUTRELEPONT und SCHÜTZ (Deutsche med. Wochenschrift 1885. Nr. 19): Gentianaviolett 1 % 24 Stunden, Entfärben mit Salpetersäuregemisch (1 : 15) und 60 % Alkohol, Nachfärbung mit Saffranin frisch bereitet, Abspülen in 60 % Alkohol. Auch DE GIACOMI (Correspondenzblatt der Schweizer Aerzte 1885. Nr. 12) giebt ein anderes Verfahren an: 24 Stunden in Fuchsinlösung, in Wasser abgespült, einige Stunden in Eisenchloridlösung, dann Alkohol, Oel. Dabei bleiben die Syphilisbacillen roth, alle anderen entfärben sich.

Von LUSTGARTEN ist besonders hervorgehoben worden, dass insofern ein Unterschied zwischen Tuberkelbacillen und Syphilisbacillen bestehe, als letztere die Säurebehandlung nicht ohne Entfärbung aushalten. Die Anzahl der Bacillen ist in Gewebsschnitten zumeist eine geringe, während man im Trockenpräparat vom Secret der syphilitischen Geschwüren sie reichlich zu Gesicht bekommt.

Die Cultivirung der Bacillen ausserhalb des Körpers ist bis jetzt allenthalben fehlgeschlagen.

Die Bacillen werden aber von LUSTGARTEN trotzdem wegen ihres regelmässigen Vorkommens in Beziehung zur Aetiologie der Syphilis gebracht.

Digitized by Google

Die Prüfung anderer Secrete auf den Gehalt an derartigen Bacillen führte dahin, dass man im gewöhnlichen Smegma praeputii ebenfalls Bacillen fand, die den LUSTGARTEN'schen in ihren Eigenschaften ausserordentlich ähnlich waren. Diese Beobachtung machten ALVAREZ ET TAVEL, DOUTRELEPONT, CORNIL (Académie de medicine 1885), KLEMPERER (Deutsche med. Wochenschrift 1885. Nr. 1885) u. s. w.

Fernerweite Untersuchungen werden ja Aufschluss geben müssen, ob die LUSTGARTEN'schen Bacillen als specifische Träger des Syphilisgiftes aufzufassen sind oder ob es unschuldige, in das Secret gelangte Smegmabacillen sind. Es dürfte wohl unnöthig sein, noch auf eine Arbeit zurückzukommen, die, von DISSE und TAGUCHI in Japan stammend, in der einfachsten Weise Aufschluss geben soll über die Ursache der Syphilis. Noch ehe die ausführlichen Berichte vorliegen, kann man wohl aussprechen, dass, wenn die Syphiliserreger mit solcher Leichtigkeit zu finden wären, gewiss schon längst vollständige Klarheit auf diesem Gebiete herrschen würde.

28. Jene schwere Affection der Lungen, die nach Durchschneidung beider nervi vagi entsteht und die daher Vaguspneumonie genannt wird, beruht nach den Forschungen von JENS SCHOU (Fortschritte der Medicin. Bd. III. 1885. Nr. 15) in der Wirkung eines aus der Mundhöhle wahrscheinlich eingewanderten Bacteriums, des Bacillus der Vaguspneumonie.

Aus dem Gewebssaft von der Schnittfläche der Lunge dreier Kaninchen vermochte der genannte Forscher einen Mikroorganismus zu isoliren, der ihm als sehr beweglicher kurzer dicker Bacillus oder, wenn man will, als ovaler Coccus erschien. Die Anilinfarben wurden von demselben sehr gut aufgenommen, dagegen entfärbte er sich bei GRAM'scher Methode wieder.

Die Gelatineculturen sind mit besonderen Eigenthümlichkeiten ausgestattet, in der Platte sind die einzelnen Colonien als runde, dunkle, körnige Punkte mit rauhen Rändern wahrzunehmen, die später in der Mitte eine sehr starke Bewegung zeigen und in ihrer Umgebung einen Strahlenkranz besitzen, nach einiger Zeit ist die gesammte Gelatine verflüssigt. Auch in Reagensgläsern tritt rasche Verflüssigung mit Abscheidung eines weissen, dicken Bodensatzes ein. In geringerem Maasse sieht man ein Flüssigwerden in Blutserumculturen, während über die ganze Kartoffel verbreitet ein eigenthümlicher röthlicher Ueberzug, aus einzelnen Colonien gebildet, entsteht. Das Wachsthum erfolgt schon bei Zimmertemperatur.

Mit diesen Reinculturen unternahm JENS SCHOU Infectionsversuche an Kaninchen, indem er den Thieren durch Injection in die Lunge durch die Brustwand oder in die Trachea, oder aber vermittelst Inhalation die aufgeschwemmten Culturen beibrachte. Es entstand eine heftige Pneumonie, die sich bei der Section ganz der Vaguspneumonie entsprechend verhielt. Es zeigten sich in beiden Lungen Hyperämie und reichliche, kleine lobulär-pneumonische Infiltrationen, auch die Trachealschleimhaut war hyperämisch.

Unter 25 Kaninchen hatte nur eines den geschilderten Mikroorganismus in der Mundflüssigkeit.

JENS SCHOU hält sich auf Grund seiner Versuchsresultate sowie in Rücksicht auf Controlexperimente, die mit anderen Bacterien angestellt worden waren, berechtigt, den beschriebenen Bacillus als die Ursache der Affection anzusehen.

29. [Von DIECKERHOFF und GRAWITZ wurde ferner in den Pusteln der sogen. englischen Pocke (Acne contagiosa) bei Pferden ein Bacillus entdeckt (Virch. Arch. Bd. 102. 1885. S. 148), der bei halber Länge des Tuberkelbacillus etwas dicker als dieser ist, und bei seiner Entwickelung, wie die Beobachtungen im hängenden Tropfen zeigen, in kuglige oder ovoide Theilstücke zerfällt, welche wiederum zu Bacillen auswachsen. Schon die blosse Einreibung von Reinculturen derselben in die Rückenhaut bei Pferden erzeugte regelmässig die charakteristi-

Digitized by Google

schen Acnepusteln, die bei Hunden, Kälbern und Schafen erheblich kleiner blieben. Bei Meerschweinchen trat nach Einreibung der Acnebacillen nur in einzelnen Fällen Pustelbildung ein; nach subcutaner Injection erfolgte binnen 24 Stunden in Folge Resorption eines an der Impfstelle gebildeten putriden Giftes der Tod. Kaninchen reagirten auf die Einreibung mit einem erheblichen pustulösen Exanthem, auf subcutane Application nur selten mit dem Tod. Feld-, Haus- und weisse Mäuse reagirten hingegen auf Einreibungen selbst in epidermisloser Haut gar nicht, starben aber nach subcutaner Injection pyämisch. J.]

30. Ein ausserordentliches Interesse hat nicht nur die medicinische Welt, sondern auch das Laien-Publicum für die Choleraforschung an den Tag gelegt und es ist der Begriff der „Kommabacillen" durch die Presse ein allgemein gekannter geworden, seitdem R. Koch die bewunderungswerthen Resultate über die Aetiologie der cholera asiatica, gewonnen im Heimathland der Krankheit, der Oeffentlichkeit übergab.

Dass diese epochemachenden Ergebnisse von der weittragendsten Bedeutung für die gesammte Menschheit waren, das wird Jeder einsehen, der die Verheerungen der genannten Seuche verfolgt hat. Es war daher wohl verständlich, dass das gesammte Volk die Arbeiten der abgesandten Expedition mit grosser Aufmerksamkeit verfolgte.

Wie aber bei allen eingreifenden Ereignissen, die bestehende Anschauungen umzuändern im Stande sind, so blieb die grossartige Entdeckung Koch's und seiner beiden Begleiter, Gaffky und Fischer, nicht unangefochten. Man hat versucht, die Ergebnisse durch Gegenüberstellung von gleichen Funden in unschuldigen Producten oder bei leichten Erkrankungsformen umzustossen oder wenigstens ihre Bedeutung abzuschwächen, ja man hat durch anderweitige Untersuchungen in Choleraherden trotz eingreifender Veränderungen der Methodik die Koch'schen Funde als nebensächlich hingestellt und gewisse andere Bacterien als das eigentliche Agens der Krankheit bezeichnet. Nun kurz, der Widerspruch, den die Koch'sche Lehre gefunden, war nicht gering. Die Entscheidung über die streitigen Punkte muss ja die Zukunft bringen. Für die wissenschaftlichen Kreise bleibt vorläufig das Koch'sche Bacterium als Ursache der Cholera zu Recht bestehen und es ist wohl mit Bestimmtheit anzunehmen, dass über so manche, nicht wegzuleugnende offene Fragen durch Koch's unermüdliche weitere Forschung Aufklärung geschaffen werden wird.

Nach diesen nothwendig erscheinenden Bemerkungen mag zunächst, da zu den stäbchenförmigen Mikroorganismen gehörig, der Emmerich'sche Bacillus (Deutsche medicinische Wochenschrift 1884. Nr. 50) einer kurzer Schilderung unterworfen werden.

Emmerich (Berl. klin. Wochenschr. 1885. Nr. 15) hat, beauftragt durch die Königlich Bayerische Regierung, in Italien, speciell in Neapel, seine Untersuchungen über das Wesen des Choleragiftes begonnen und in München weitergeführt.

Es standen ihm 9 Choleraleichen und eine cholerakranke Frau kurze Zeit vor dem Tode zur Verfügung. In den inneren Organen, besonders den Nieren und der Leber, aber auch in den Lungen, selten in der Milz, fand er ein Bacterium, das auch im Blut sich zeigte. Auch in dem Darminhalt und der Stuhlentleerung stiess er auf dasselbe, während in zwei Fällen die Koch'schen Kommabacillen darin fehlten. Nur in Nieren- und Darmschnitten waren sie bis zur Veröffentlichung der Arbeit nachgewiesen.

Das Bacterium besteht aus kurzen cylindrischen Zellen mit abgerundeten Enden, meist zu zweien, selten zu Ketten verbunden, seine Länge ist 1 ½ Mal so gross als die Breite; die grösste Aehnlichkeit haben sie mit den Diphtheriebacillen, von denen sie die Cultur unterscheidet. Eine Sporenbildung ist bei den Bacterien nicht gesehen worden. Zur Färbung eignet sich vor allem die Gram'sche Methode.

Digitized by Google

Die erste Aussaat der bacterienhaltigen Gewebssäfte und des Blutes wurde nun in der Form vorgenommen, dass man direct aus den unter allen Vorsichtsmaassregeln freigelegten Organschnitten oder den Blutproben Stichculturen in Gelatine anlegte. Die Isolirung und Trennung der einzelnen vorhandenen Bacterienarten vermittelst des Plattenverfahrens wurde wegen Mangel an Zeit und wegen sonstiger Schwierigkeiten nicht an Ort und Stelle, sondern erst nach der Rückkehr in München aus den Stichculturen ausgeführt. Von 10 angelegten Stichculturen entwickelten sich nur drei, während die anderen sieben steril blieben, ein doppelt zu deutendes Ereigniss.

Von Emmerich werden nun die entwickelten Culturen folgendermassen beschrieben: In schwach alkalischer Gelatine wachsen sie bei gewöhnlicher Temperatur in Form von milchglasfarbigen festen Rasen ohne Verflüssigung der Gelatine, aber mit der Neigung, auf der Oberfläche sich auszubreiten. Die Einzelcolonien in den Platten besitzen wetzsteinförmige Gestalt in den tiefen Schichten der Gelatine bei gleichzeitigem gelbbraunen gekörnten Aussehen; in den oberflächlichen sind sie mehr als runde, schwachgelbe, zur Ausbreitung geneigte Punkte. Die Stichcultur gleicht denen von Typhusbacillen.

Das Verhalten gegen Kälte und Wasserentziehung war so, dass das Gefrieren und die Austrocknung bei Zimmertemperatur längere Zeit hindurch der Entwickelungsfähigkeit keinen Abbruch gethan hatte.

Mit Culturen von den beschriebenen Bacterien wurden von Emmerich Infectionsversuche an Thieren unternommen. Als Versuchsthiere wurden verwendet Meerschweinchen, Hunde, Katzen und ein Affe. Gleichgültig, auf welche Weise das Infectionsmaterial dem Körper beigebracht wurde, allemal trat die Dünndarmerkrankung als das hauptsächlichste Krankheitssymptom hervor. Je nach den zugeführten Mengen ist auch der Krankheitsverlauf ein langsamer oder rascher, von ca. 1 Tag bis 6 Tage; die so stark in die Augen fallende Darmaffection hat nach Emmerich in der Cholera ein Analogon.

Bei den Sectionen sah man die Milz unverändert, im Blinddarm und Dickdarm dagegen hier und da Ekchymosen, die Mesenterialdrüsen sehr stark geschwollen. In allen Organen und Geweben fanden sich die Bacillen wieder.

Trotz einiger naheliegender Einwände wäre es jetzt gewiss nicht an der Zeit, ein Urtheil über den Werth und die Bedeutung des Emmerich'schen Bacillus zu fällen, bevor nicht von berufener Seite nach gründlicher Prüfung der Resultate gesprochen worden ist.

c) Schraubenförmige Bacterien.

1. Wennschon einige später zu besprechende Formen von Schraubenbacterien viel länger bekannt und beschrieben sind, so erscheint es doch wohl am passendsten, anschliessend an den Emmerich'schen Bacillus gleich zur Schilderung des *bacillus cholerae asiaticae* (Taf. Fig. 22 u. 23) (Berichte der Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. I. und II. 1884; Deutsche medicin. Wochenschrift. Nr. 32 u. 32A. 1885; Deutsche medicinische Wochenschrift. Nr. 37 A.) überzugehen.

Nach vielen vorbereitenden und orientirenden Untersuchungen über die bei der Choleraerkrankung vorzufindenden Mikroorganismen sowohl in dem am meisten befallenen Organe, dem Darm und seinem Inhalt, als auch in den inneren Organen waren die Mitglieder der deutschen Choleracommission unter R. Koch zu dem Resultat gelangt, dass eine Form von Bacterien ganz regelmässig in dem Darminhalt aller frischen in Egypten sowohl wie Indien untersuchten Choleraleichen sich vorfand, aber auch ein constanter Befund in den im Leben entleerten Choleradejectionen war. Im Höhestadium der Choleraerkrankung besteht der weissgraue, reiswasserähnliche Darminhalt öfter nahezu

Digitized by Google

aus einer Reincultur derartiger Bacterien. Eine weitere Verbreitung vom Darm aus scheint nach KOCH nicht stattzufinden, höchstens waren in Schnitten aus der Darmwand die Bacterien zu finden, nicht aber in den übrigen Organen der Choleraleichen. Zudem gelang es auch, dieselben Mikroorganismen in einem stark verunreinigten Wasser eines „Tank" aufzufinden, in dessen Umgebung zahlreiche Cholerafälle aufgetreten waren und aus dem das Trink- und Gebrauchswasser entnommen wurde.

Dieses Bacterium, das den Namen „Kommabacillus" im Volksmunde führt, erscheint als gekrümmter kleiner Bacillus, vielleicht ein klein wenig kürzer als der Tuberkelbacillus, am ehesten dem Rotzbacillus vergleichbar. Die einzelnen Bacillen haben die Neigung, sich so aneinander zu lagern, dass wenn der erste mit der Concavität nach rechts, der zweite mit dieser nach links gelegen ist. Auf diese Weise können in kleineren Gruppen S-förmige, bei längeren Fäden wirkliche Spiralfäden wahrgenommen werden. Die Bezeichnung „Bacillus" ist nach HUEPPE um deswillen nicht treffend, weil eine endogene Sporenbildung ihm nicht eigen zu sein scheint. Vielmehr dürfte er mit Wahrscheinlichkeit zu den Bacterien zu zählen sein, die eine arthrospore Bildung ihrer Dauerform aufweisen. Es würde deshalb nach HUEPPE (Fortschritte der Medicin. 1885. S. 619 ff.) der Kommabacillus als eine „Spirochäte" aufzufassen sein, die zwischen 34 und 37 ° C. Arthrosporenbildung eingeht, indem sich das einzelne Glied der Spirochäte in zwei stärkere, lichtbrechende kugelförmige Gebilde theilt, aus denen unter günstigen Ernährungsverhältnissen die ursprüngliche Form wieder erstehen kann durch Streckung der Kugel in die Länge.

Die ausserordentlich starke Beweglichkeit kann man am besten verfolgen, wenn man einen Tropfen steriler neutraler Bouillon mit einer Spur von der Cultur inficirt und im hohlen Objectträger, gegen Verdunstung geschützt, stehen lässt. Lässt man dann diese Tropfen an der Luft eintrocknen, so geben diese gleichzeitig nach eintägiger Entwickelung im hohlen Objectträger die schönsten Präparate der „Kommabacillen", meist auch mit gleichzeitiger Bildung von spiralartigen Fäden. Zur Färbung der Trockenpräparate kann man alle gebräuchlichen basischen Anilinfarben anwenden, am meisten hat sich die verdünnte alkoholische Fuchsinlösung Eingang verschafft.

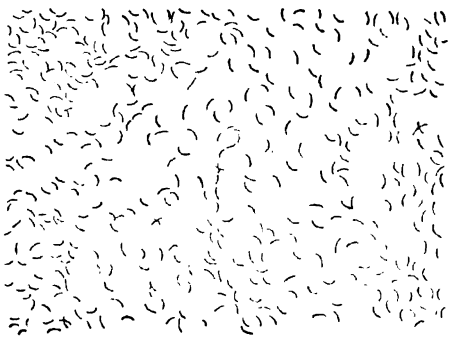


Fig. 12. Cholera.

Das mikroskopische Bild der Cholerabacillen ist zwar als ein vollständig charakteristisches zu bezeichnen, indess für den weniger Geübten wird es grosse Schwierigkeiten haben, dieselben z. B. von den später zu erwähnenden Bacillen von FINKLER und PRIOR u. s. w. zu unterscheiden.

Hier hilft nun die Art und Form des Wachsthums der Einzelcolonien wie seiner Stichcultur zur Differenzirung von anderen ähnlichen Bacterien.

In Gelatineplatten zeigen sich die um einen Keim entwickelten Einzelcolonien mit unregelmässigem, theilweise zackigem Rand versehen, im Innern ist ein glasbröckchenähnlicher Glanz vorhanden, die in den oberen Schichten gelegenen haben einen rosarothen Schein. In späteren Stadien der Entwickelung fällt eine trichterförmige Einziehung in Folge geringfügiger Verflüssigung auf, jedoch geht die letztere gar nicht weit; es hat dann die Gelatineplatte das

Digitized by Google

Aussehen einer vielfach durchlöcherten Glasplatte. In den einzelnen kleinen Colonien ist bei schwacher Vergrösserung bei einiger Uebung ein stetes Wogen des Innern zu finden. Aber auch die aus den isolirten Colonien hergestellte Stichcultur besitzt ein sie vollständig charakterisirendes Aussehen. Nach Verlauf von 2—3 Tagen zieht sich am Anfang des Impfstiches die Gelatine unter Bildung eines intensiv hellen, glänzenden, einer Luftblase ähnlichen Trichters nach unten zu ein, die Einziehung geht dann über in Verflüssigung, bis die letztere bei einer bestimmten Grenze aufhört, öfter kann ja die Gelatine des ganzen Reagensglases davon ergriffen sein. In alten Culturen macht sich ein weissgrauer Bodensatz bemerkbar. In den Culturen erhalten sich die Bacillen ziemlich lange wuchskräftig. Hingegen gelingt es nicht sie unter annähernder Sauerstoffverweigerung zur Entwickelung zu bringen; von der grössten Bedeutung muss für die Sanitätspolizei jene Erfahrung sein, dass die Bacillen nur sehr kurze Zeit die Feuchtigkeit entbehren können, da sie schon nach Stunden der Eintrocknung nicht mehr entwickelungsfähig gefunden werden.

Auf den übrigen festen Nährböden besitzen sie keine besonderen eigenthümlichen Wachsthumsmerkmale, auf Agar-Agar zeigen sie eine grauweisse Auflagerung, auf der Oberfläche des Blutserum verflüssigen sie bei ihrem Wachsthum. Nur die Kartoffelcultur muss als besonders bemerkbar gelten, hier entsteht bei Körpertemperatur eine der Impfung entsprechende hellgraue bis bräunliche Masse, bestehend aus Colonien der Cholerabacillen.

Im Allgemeinen gilt noch für die Entwickelung der Culturen, dass sie sich am besten bei Körpertemperatur, unter 16 ° C. aber überhaupt nicht mehr entwickeln können, ohne dass sie dabei oder etwa bei Temperatur unter 0 ° ihre Entwickelungsfähigkeit einbüssten. Durch Versuche ist festgestellt worden, dass die Bacterien gegen Säuren ausserordentlich empfindlich sind, woraus man entnommen hat, dass in dem gesunden, salzsäureabscheidenden Magen die mit den Speisen eingedrungenen Keime sicher abgetödtet werden, hingegen bei mangelnder Säure unverändert in den Darm eindringen und hier den Krankheitsprocess erzeugen können.

Es sei noch kurz erwähnt, dass Substanzen wie Chinin, Sublimat u. s. w. selbst in ausserordentlich hohen Verdünnungen noch entwickelungshemmend für die Cholerabacillen wirken können.

Die mit rein cultivirten Cholerabacillen angestellten Thierversuche ergaben in den ersten Zeiten nach der Entdeckung immer negative Resultate, mochte man eine Infectionsmethode wählen, welche man wollte, ohne dass man vorher die normale Beschaffenheit des Verdauungstractes verändert hatte.

Die Annahme der Unempfänglichkeit der Thierarten für die Cholerainfection lag sehr nahe im Hinblick auf die ähnlichen Verhältnisse beim Typhus abdominalis und man würde trotzdem aus dem regelmässigen Vorkommen der besagten Bacillen im Choleradarm und dem Mangel an Nachweis derselben in anderen Processen auf die Specifität haben schliessen können. Trotzdem ist eine Lücke noch nicht ausgefüllt, es ist dies die Frage nach der Art und Weise der Wirkung der Bacillen bei der Choleraerkrankung. Dass man hier eine directe Einwirkung deletärer Natur ausschliessen kann, liegt auf der Hand, vielmehr dürfte wohl dieselbe zu suchen sein in der Producirung eines giftigen, den Körper vernichtenden Stoffes, mag man ihn nennen, wie man will. Leider sind hierüber die Resultate der Untersuchungen noch sehr im Anfang des Anfanges anzutreffen.

Die Voraussetzung von der Unempfänglichkeit der Thiere sollte sich bald als unrichtig erweisen, denn Nicati und Ritsch (Recherches sur le choléra. Expériences d'inoculation. Première partie. Revue de medicine. XV. No. 6) kamen auf Grund ihrer Experimente zu dem Resultat, dass „das Meerschweinchen vom Magen, sicherer vom Duodenum aus für Cholera empfänglich ist, der Hund bei Injection in den Gallengang. Die Uebertragungen gelingen nur

Digitized by Google

bei Anwesenheit von Kommabacillen in den verimpften Massen. Das Blut aus Choleraleichen bewirkt keine Cholera, sondern nur Vergiftungserscheinungen". Weiterhin konnte KOCH durch seine späteren Versuche feststellen, dass Meerschweinchen, deren Allgemeinzustand durch Opium gestört und der Magensaft mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht worden war, durch Injection von in Bouillon aufgeschwemmten Culturen einem choleraähnlichen Process erlagen. Im Darm dieser Thiere fanden sich sowohl im Inhalt desselben, sowie in den schlauchförmigen Drüsen und der Schleimhaut massenhafte Cholerabacillen, während das Blut und die Organe, analog der an Cholera verstorbenen Menschen, davon frei betroffen wurden.

Diese nachträglichen Ergebnisse sind wohl zweifellos geeignet, die KOCH-sche Lehre von der Entstehung der Cholera asiatica allein durch die Wirkung des sogenannten Cholerabacillus zu befestigen. Ueber die Controversen, wie sie zur Zeit noch bestehen zwischen den von v. PETTENKOFER und den von KOCH vertretenen Ansichten muss auf die Berichte der letzten Choleraconferenz verwiesen werden. Der Zukunft bleibt die Lösung dieser Widersprüche vorbehalten.

Um zuletzt noch ein Wort zu sagen über die viel besprochenen Resultate der FERRAN'schen Schutzimpfung, so entbehren sie aller und jeder exacten wissenschaftlichen Grundlage. Sollten sie wirklich von dem Erfolg begleitet sein, wie die leicht empfängliche Tagespresse es berichtete, nun so sind diese empirisch gewonnenen Resultate vorläufig für die Wissenschaft wenig von Bedeutung.

2. Bald nach dem Bekanntwerden der KOCH'schen Forschungsresultate traten FINKLER und PRIOR mit den Ergebnissen von Untersuchungen über die Bacterien bei der sogenannten cholera nostras hervor und zwar hatten sie in den Faeces derartiger Kranker ebenfalls einen „Kommabacillus" entdeckt, der nach ihnen als der Bacillus von FINKLER und PRIOR (Deutsche medic. Wochenschrift 1884. Nr. 36) (Taf. Fig. 24) bekannt geworden ist. Es wäre durch diese Entdeckung mit vollem Rechte die Specificität der KOCH'schen Cholerabacillen wieder sehr in Frage gestellt worden, wenn nicht ganz besondere Eigenschaften die KOCH'schen Bacillen von den FINKLER-PRIOR'schen unterscheiden liessen. Aus ihrem Fund ging aber die Lehre hervor, dass man nicht nur auf eine Eigenschaft allein — hier war es die morphologische Aehnlichkeit — Rücksicht nehmen darf, um die Identität solcher neu kennen gelernter Mikroorganismen festzustellen, sondern dass man, wenn möglich, den ganzen zugänglichen Entwickelungsgang und die Wirkungsweise zu Grunde legen muss.

Diese FINKLER-PRIOR'schen Bacterien bestehen ebenfalls aus gekrümmten, stäbchenförmigen Einzelzellen, welche, etwas grösser als die Cholerabacillen, zugespitzte Enden besitzen, so dass ihr Mittelstück dicker erscheint. Auch sie haben die Neigung, wie oben beschrieben, spiralförmige Fäden zu bilden, weshalb sie auch in dieser Kategorie untergebracht sind. Mit geringerer Beweglichkeit im Leben ausgestattet nehmen sie die Anilinfärbung, besonders Fuchsinlösung, intensiv an und haben ebenso wie die KOCH'schen Bacillen grosses Sauerstoffbedürfniss.

Der Hauptunterschied ist aber zu suchen in dem Wachsthum der Reinculturen. Die Gelatine wird von diesen ausserordentlich rasch verflüssigt, so dass, wenn heute noch nur ganz kleine runde, fein granulirte, gelbliche Colonien wahrnehmbar waren, morgen bereits die ganze Gelatine der Platte in eine trübe, flüssige, sehr stinkende Masse verwandelt ist. Dasselbe gilt den Verhältnissen entsprechend auch von der Stichcultur: längs des Impfstiches entwickelt sich sehr rasch eine strumpf- oder hosenförmige Verflüssigung von grauweissem Aussehen, nach kürzerer Zeit ist die gesammte Gelatine des Reagensglases in Verflüssigung übergegangen. Diese Merkmale unterscheiden sie doch ganz wesentlich von den Culturen der echten Cholerabacillen. Aber auch die Kartoffelcultur zeigt anderes Verhalten: schon bei Zimmertemperatur wird

Digitized by Google

die ganze Kartoffelscheibe von einer grüngelben schmierigen Masse von schleimiger Consistenz überzogen, die einen höchst widerlichen Geruch verbreitet. Auf Agar-Agar gezüchtet sind keine besonderen hervorstechenden Eigenschaften, abgesehen von der Raschheit der Entwickelung, zu constatiren.

Nach FINKLER und PRIOR (Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege. Bd. I. Heft 5 u. 6) sind die Thierversuche ebenfalls negativ ausgefallen. Nach späteren Berichten ist es möglich bei Meerschweinchen durch directe duodenale Injection minimaler Quantitäten von Reinculturen eine choleraähnliche Krankheit zu erzeugen, allerdings nicht so constant, wie bei Verwendung der KOCH'schen Reinculturen von Cholerabacillen.

Sie kommen zu dem Schluss, dass wahrscheinlich diese Bacterien als die Ursache der cholera nostras anzusehen seien.

Es ist wohl nicht nöthig nach dem Gesagten darauf hinzuweisen, dass es FINKLER und PRIOR wohl sicher nicht mit einem dem Cholerabacillus gleichen Mikroorganismus zu thun gehabt haben.

3. Eine sogenannte *spirochaete buccalis* oder *dentium* lässt sich in der normalen Mundflüssigkeit des Menschen sehr oft auffinden. Es ist ein sehr zartes, korkzieherartig gewundenes Bacterium. Dasselbe ist entweder ganz unbeweglich oder dreht sich wenigstens ausserordentlich langsam in einer Spirale. Zu färben ist es einfach, wie alle anderen Bacterien, mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen. Eine Züchtung ist bisher vollkommen fehlgeschlagen. Ob die im Darm nachgewiesene Spirochäte mit der sp. dentium identisch ist, kann man noch nicht mit Bestimmtheit angeben. Irgend welche Wirkungen dieser Bacterien sind ebenfalls nicht bekannt.

4. Im Jahre 1873 konnte OBERMEIER (Virchow's Archiv. Bd. 47. Centralblatt für die med. Wissenschaften 1873. S. 145) das regelmässige Vorkommen von Spirillen im Blute von Kranken, die sich im Fieberanfall der febris recurrens befanden, constatiren; man nennt das Bacterium nach seinem Entdecker *spirochaete Obermeieri*. Mit ihr wurden die Bacterienfunde bei Infectionskrankheiten gewissermaassen eröffnet, trotzdem aber stehen die Kenntnisse über ihre Entwickelungsgeschichte, ihr Herkommen, ihren Verbleib ausserhalb der Fieberanfälle noch genau auf dem damaligen Standpunkt. Man weiss, dass die febris recurrens von Person auf Person übertragbar ist, aber der Vorgang der Infection ist nicht gekannt.

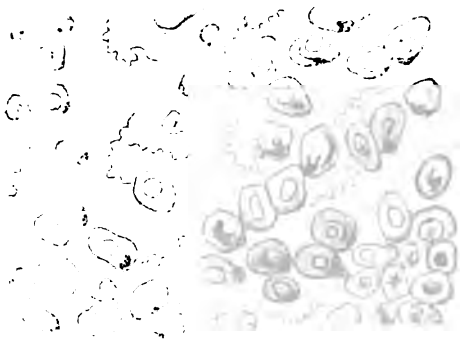


Fig. 13. Febris recurrens.

Die Recurrensspirochäte ist, ähnlich der spir. buccalis, ein zarter, 16—40 μ langer, mit verschieden vielen Schraubengängen ausgestatteter Mikroorganismus. Sie zeigt eine ausserordentlich starke Beweglichkeit in spiraliger Linie, dazu aber noch ein stetes Unduliren des gesammten Fadens. Die beste Färbung derselben erreicht man mit der starken alkalischen Lösung von Methylenblau nach LÖFFLER, weniger gut in wässrigen Lösungen von Vesuvin, Fuchsin u. s. w.

Leider hat sich seit ihrer Entdeckung trotz der vielfachen Versuche noch keine Methode finden lassen, sie auch ausserhalb des Thierkörpers lebend und wachsend zu erhalten: mit der Entnahme aus dem Blut der Fiebernden ist auch wie es scheint ihr Leben und ihre Existenz zu Ende.

Digitized by Google

Dass man es in diesem Mikroorganismus höchst wahrscheinlich mit dem Erreger der genannten Erkrankung zu thun hat, erhellt aus den Resultaten über seine Uebertragbarkeit auf Menschen und Affen, während allerdings andere Thiere, als Mäuse, Kaninchen, Schafe, Schweine vollkommen immun sich verhalten. Auf Menschen hat MATSCHUTKOFFSKY (Centralbl. 1876. S. 194) erfolgreiche Ueberimpfungen ausgeführt, bei Affen ist dies verschiedenen Autoren gelungen, als VANDIK, LEWER, CARTES und KOCH (Deutsche med. Wochenschr. 1879. Nr. 16 und 25). Nach des Letzteren Angaben, erhärtet durch vorzügliche Photogramme, finden sich bei den auf der Höhe der Krankheit getödteten Thieren (Mittheil. a. d. kaiserl. Gesund.-Amt Bd. I. S. 40) innerhalb der Blutgefässe in den verschiedensten Organen, wie Gehirn, Lunge, Leber, Nieren, Milz, Haut die Spirochäten in reichlicher Anzahl vor.

Zum Schluss mag noch darauf hingewiesen werden, dass auch die Sprosspilze in ähnlicher Weise, wie die Spaltpilze in denselben durchsichtigen festen Nährsubstraten sich züchten lassen. Auch sie tragen in ihren einzelnen Arten Differenzen des Wachsthums, der Farbstoffabscheidung, der Zersetzungsfähigkeit u. s. w. zur Schau. Auf der farbigen Tafel sind in Fig. 1, 2 und 3 drei durch Farbstoffabscheidungen verschiedener Art unterscheidbare Hefeformen dargestellt worden.

Ueber das Verhalten der sogenannten pathogenen Schimmelpilze ist an anderer Stelle des Lehrbuches ausführlicher berichtet worden, ein letztes Wort mag nur noch in Bezug auf die Untersuchungsmethoden hinzugefügt werden. Zur mikroskopischen Untersuchung werden die Schimmelpilze am zweckmässigsten auf dem Deckglas oder Objectträger fein zerzupft und in Alkohol, dem einige Tropfen Ammoniak beigefügt sind, behandelt. Die Annahme der Anilinfarbstoffe ist bei den einzelnen Arten sehr verschieden; Dauerpräparate legt man in Glycerin oder auch Canadabalsam ein.

Das gewöhnliche Nährmaterial eignet sich auch zur Züchtung dieser eigentlichen Pilze, doch verlangen sie zu ihrer üppigen Entfaltung sauren Nährboden und hier ist ein steriler Brodbrei das beste Nährsubstrat. Gerade die pathogenen Arten derselben wachsen am üppigsten bei Körpertemperatur, während die unschädlichen bei höherer Temperatur nicht gedeihen können.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Druck von J.B. Hirschfeld in Leipzig.

Digitized by Google

LEHRBUCH
DER
PATHOLOGISCHEN ANATOMIE
VON

Dr. F. V. Birch-Hirschfeld,
ord. Professor der Allgem. Pathologie und patholog. Anatomie in Leipzig.

ERSTER BAND.
Allgemeine pathologische Anatomie.

Dritte völlig umgearbeitete Auflage.

Mit veterinär-pathologischen Beiträgen
von Prof. Dr. **A. Johne** in Dresden,
und einem Anhang:
Die pathologisch-histologischen und bacteriologischen
Untersuchungsmethoden
mit besonderer Darstellung der wichtigsten
BACTERIEN
von Dr. **C. Huber** und Dr. **A. Becker** in Leipzig.

Mit 169 Abbildungen im Text und 3 farbigen Tafeln.
gr. 8. 1886. 12 Mark.

Arnold, Prof. J. (Heidelberg), Untersuchungen über Staubinhalation und Staubmetastase. Mit 3 Tafeln. Lex.-8. 1885. 10 M.

Brass, Dr. A. (Leipzig), Grundriss der Anatomie, Physiologie und Entwickelungsgeschichte des Menschen. Für Studirende und Laien. Mit 66 Abbildungen. gr. 8. 1884. 7 M.

Bunge, Prof. Dr. G. (Basel), Vitalismus und Mechanismus. Ein Vortrag. gr. 8. 1886. 60 Pf.

Edinger, Dr. L. (Frankfurt a. M.), Zehn Vorlesungen über den Bau der nervösen Centralorgane. Für Aerzte und Studirende. Mit 120 Abbildungen. Lex. 8. 1885. 6 M.

Erb, Prof. W. (Heidelberg), Handbuch der Krankheiten des Rückenmarks und des Verlängerten Marks. **2. Auflage.** Mit 32 Abbildungen. gr. 8. 1878. 20 M.
(v. Ziemssen's Handbuch der Speciellen Pathologie und Therapie. Bd. XI. 2.)

——— Die Thomsen'sche Krankheit (Myotonia congenita). Studien. Mit 2 Tafeln. gr. 8. 1886. 4 M.

——— Handbuch der Elektrotherapie. **Zweite Auflage.** Mit 39 Abbildungen. gr. 8. 1886. 15 M.
(v. Ziemssen's Handbuch der Allgemeinen Therapie. Bd. III.)

Flügge, Prof. C. (Göttingen), Mikroorganismen. Mit besonderer Berücksichtigung der Aetiologie der Infectionskrankheiten. **2.** völlig umgearbeitete **Auflage** der „Fermente und Mikroparasiten". Mit 144 Abbildungen. gr. 8. 1886. M.

Hauser, Dr. G. (Erlangen), Ueber Fäulnissbacterien und deren Beziehungen zur Septicämie. Ein Beitrag zur Morphologie der Spaltpilze. Mit 15 Tafeln. Lex. 8. 1885. 12 M.

Hensen, Prof. V. (Kiel), Physiologie der Zeugung. Mit 48 Abbildungen. gr. 8. 1881. 8 M.
(Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. VI. 2.)

His, Prof. W. (Leipzig), Anatomie menschlicher Embryonen. 3 Abtheilungen. Text mit Abbildungen und Atlas mit 15 Tafeln. gr. Fol. 1880—1885. 75 M.

I. Embryonen des ersten Monats. Text mit 17 Abbildungen und Atlas (Tafel I—VIII). gr. 8 u. gr. Fol. 1880. 30 M.

II. Gestalt- und Grössenentwicklung bis zum Schluss des zweiten Monats. Text mit 67 Abbildungen. gr. 8. 1882. 5 M.

III. Text: Zur Geschichte der Organe. Mit 156 Abbildgn. gr. 8. Atlas: Embryonen bis Ende des zweiten Monats. gr. Fol. (Tafel IX—XIV u. I*.) 40 M. (Text apart 8 M.)

——— Beiträge zur Anatomie des menschlichen Herzens. Herrn Prof. Dr. Fr. Miescher-His zum 9. Januar 1886, dem Jubeltage Seiner Promotion an der Universität Berlin gewidmet. Mit 3 Tafeln in Lichtdruck. Lex. 8. 1886. 2 M.

Digitized by Google

Hoffmann, Prof. F. A. (Dorpat), Vorlesungen über Allgemeine Therapie mit besonderer Berücksichtigung der inneren Krankheiten. gr. 8. 1885. 10 M.

Hueter's Grundriss der Chirurgie. **Dritte** vollständig umgearbeitete **Auflage** von Prof. H. Lossen in Heidelberg. 2 Bände. Lex. 8. 1885. 35 M.

I. Band. Allgemeiner Theil. (Verletzung und Entzündung. Wund- und Eiterfieber. Geschwulstbildung. Operations- und Instrumentenlehre. Verband- und Apparatenlehre). Mit 176 Abbildungen. 10 M.

II. Band. Specieller Theil. 1. Abtheilung. Die chirurgischen Krankheiten des Kopfes. Mit 106 Abbildungen. 5 M.

2. 3. Abtheilung. Die chirurg. Krankh. d. Halses u. Rumpfes. Mit Abbild. 10 M.

4. 5. Abtheilung. Die Verletzungen und Krankheiten der Extremitäten. Mit 97 Abbildungen. 10 M.

Johne, Prof. A. (Dresden), Ueber die Koch'schen Reinculturen und die Cholerabacillen. Erinnerungen aus dem Cholera-Cursus im K. Gesundheitsamte zu Berlin. Für Aerzte und gebildete Laien. Mit 4 Abbildungen. Separatabdruck. 1. u. **2. Auflage.** gr. 8. 1885. 80 Pf.

Laache, Dr. S. (Kristiania), Harn-Analyse für practische Aerzte. Mit 21 Abbildungen. 8. 1885. 3 M.

Lesser, Dr. E. (Leipzig), Lehrbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten Für Studirende und Aerzte.

I. Theil. Hautkrankheiten. **Zweite Auflage.** Mit 23 Abbildungen und 6 Tafeln. gr. 8. 1886. 6 M.

II. Theil. Geschlechtskrankheiten. gr. 8. 1886. 6 M.

(Ergänzungsband zu Strümpell's Lehrbuch der Spec. Pathologie und Therapie.)

---

v. Liebermeister, Prof. C. (Tübingen), Vorlesungen über Specielle Pathologie und Therapie.

I. Band. Infectionskrankheiten. Mit 7 Abbildungen. gr. 8. 1885. 6 M.

II. Band. Krankheiten des Nervensystems. Mit 4 Abbildgn. gr. 8. 1886. 10 M.

Möbius, Dr. P. J. (Leipzig), Allgemeine Diagnostik der Nervenkrankheiten. Mit 101 Abbildungen. gr. 8. 1886. 8 M.

Naunyn, Prof. Dr. B. (Königsberg), Zum derzeitigen Standpunkte der Lehre von den Schutzimpfungen. Rectoratsrede. gr. 8. 1886. 80 Pf.

Neukomm, Dr. M. (Zürich), Die epidemische Diphtherie im Canton Zürich und deren Beziehungen zum Luftröhrenschnitt. Mit 5 Tafeln. gr. 4. 1886. 6 M.

Oertel, Prof. M. J. (München), Handbuch der Allgemeinen Therapie der Kreislaufs-Störungen, Kraftabnahme des Herzmuskels, ungenügender Compensationen bei Herzfehlern, Fettherz und Fettsucht, Veränderungen im Lungenkreislauf etc. **Dritte Auflage.** Unveränderter Abdruck der zweiten durch neue Untersuchungen vermehrten Auflage. Mit 38 Abbildungen. gr. 8. 1885. 6 M.

(v. Ziemssen's Handbuch der Allgemeinen Therapie. Bd. IV.)

Pommer, Dr. G. (Graz), Untersuchungen über Osteomalacie und Rachitis nebst Beiträgen zur Kenntniss der Knochenresorption und -apposition in verschiedenen Altersperioden und der durchbohrenden Gefässe. Mit 7 Tafeln. Lex. 8. 1885. 20 M.

Schroeder, Prof. C. (Berlin), Handbuch der Krankheiten der weiblichen Geschlechtsorgane. Mit 185 Abbildungen. **7.** umgearb. **Auflage.** gr. 8. 1886. 10 M.

(v. Ziemssen's Handbuch der Speciellen Pathologie und Therapie. Bd. **X.**)

Strümpell, Prof. A. (Erlangen), Lehrbuch der Speciellen Pathologie und Therapie der inneren Krankheiten. Für Studirende und Aerzte. **Dritte** vermehrte und verbesserte **Auflage.** Mit 110 Abbildungen. 2 Bände. gr. 8. 1886. 32 M.

I. Band. Acute Infectionskrankheiten. Krankheiten der Respirationsorgane, der Circulationsorgane und der Digestionsorgane. Mit 55 Abbildungen. 14 M.

II. Band. 1. Theil. Krankheiten des Nervensystems. Mit 48 Abbildungen. 10 M.

II. Band. 2. Theil. Krankheiten der Nieren und der Bewegungsorgane. Constitutionskrankheiten. Vergiftungen. Receptformeln. Mit 8 Abbildungen. 8 M.

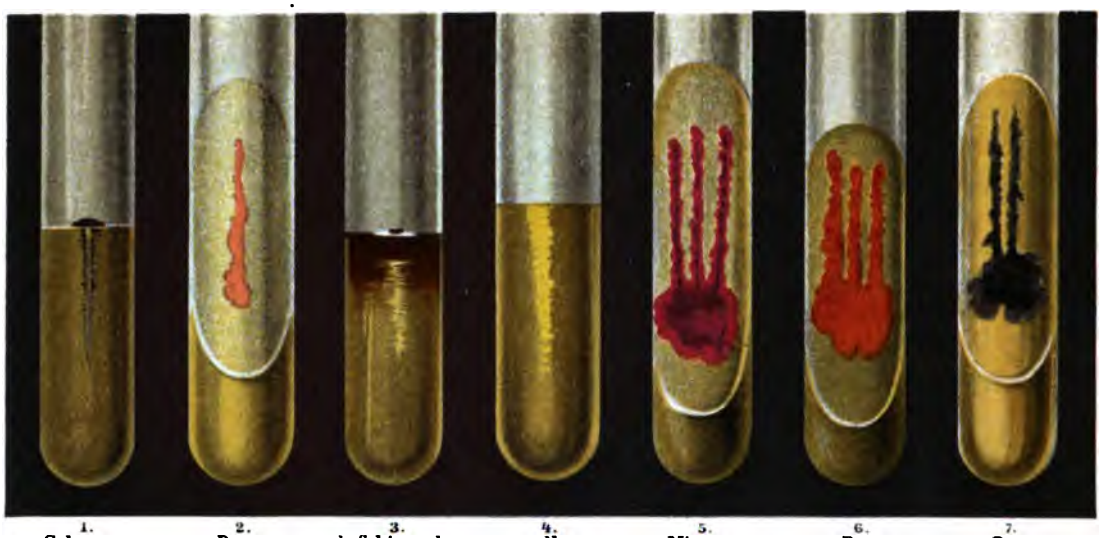
---

v. Voit, Prof. C. (München), Handbuch der Physiologie des Allgemeinen Stoffwechsels und der Ernährung. gr. 8. 1881. 14 M.

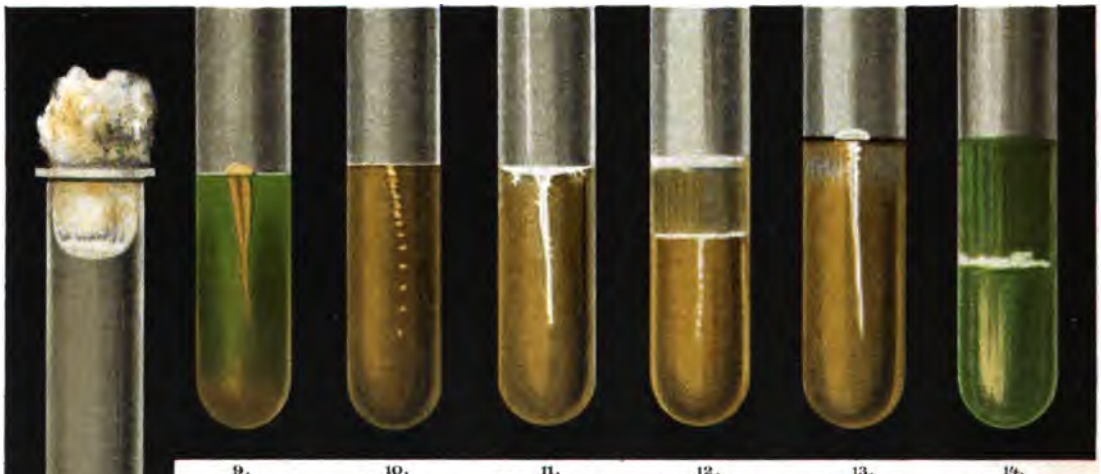
(Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. VI. 1.)

Digitized by Google

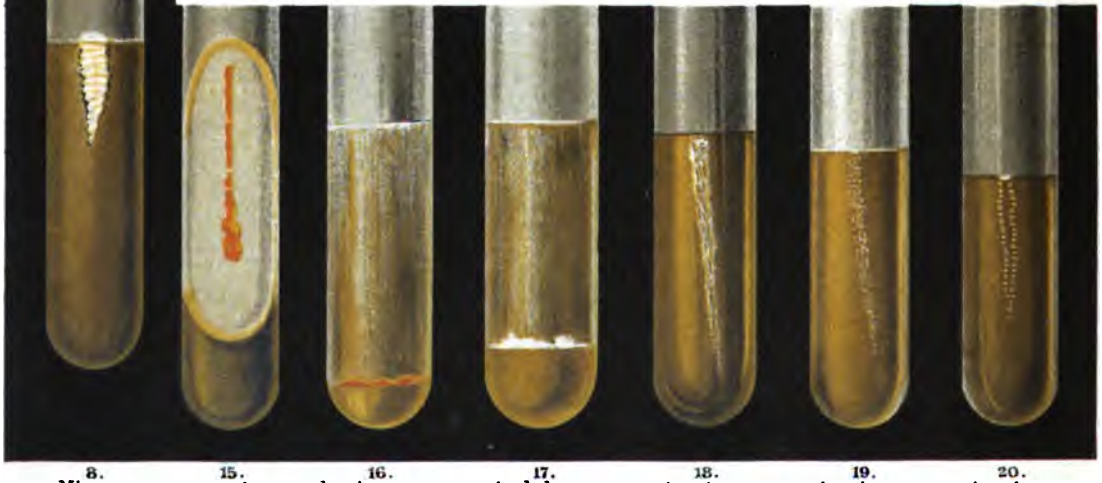
Digitized by Google



1. Schwarze Hefe. 2. Rosa Hefe. 3. br.Schimmel Hefe. 4. gelbe Sarcine. 5. Microc. prodig. 6. Bac. indicus. 7. Bac. violac.



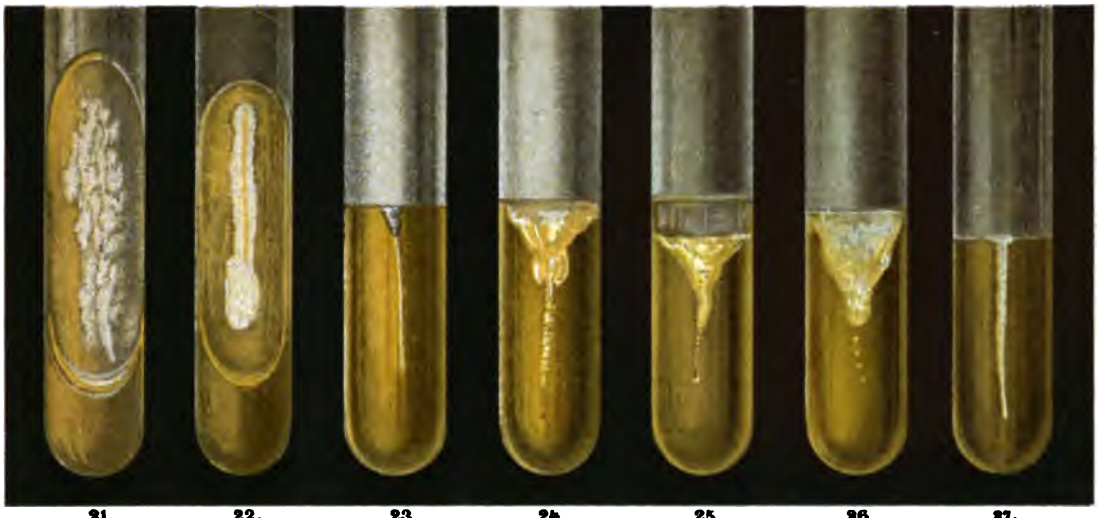
9. Bac. fluoresc. 10. Microc. lactis. 11. Milchsäure Bac. 12. Buttersäure Bac. 13. Bac.der blauen Milch. 14. Bac.des grünen Eiters.



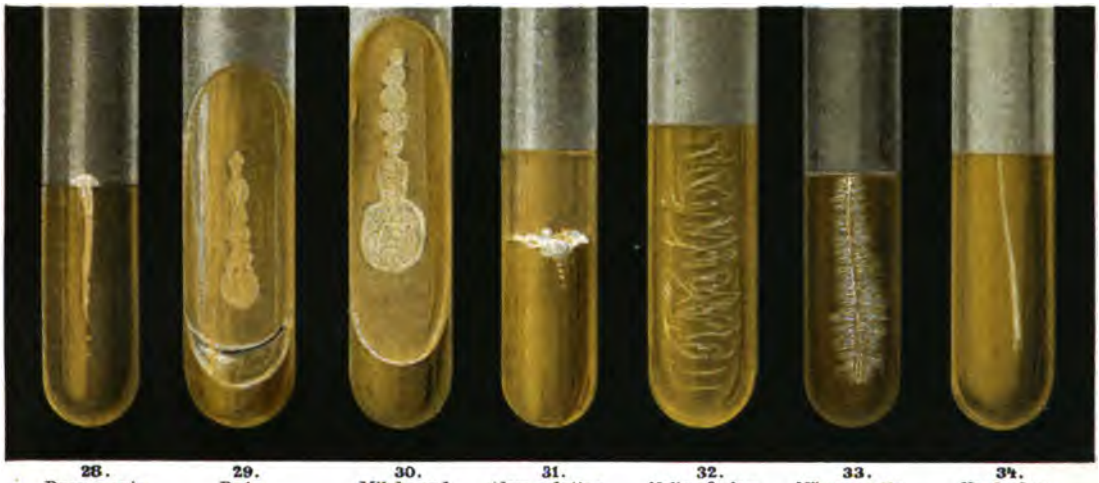
8. Microc. tetragen. 15. osteomyel. staphyloc. 16. microc. pyog. aur. gelatine. 17. staphyl.pyog. albus. 18. streptococc. pyog. 19. streptococc. erysip. 20. streptococc. puerp.

Digitized by Google

Becker, Bacterien. L. Theochar, pinx. Verlag v. F.C.W. Vogel, Leipzig. Lith. Anst. v. J.G. Bach, Leipzig.



21. B.tuberc. 22. Cholera. 23. idem.gelatine. 24. Finkler-Prior. 25. Denecke. 26. Miller. 27. Typh.abd.



28. Pneumonie-coccus. 29. Rotz. 30. Milzbrand. 31. idem.gelatine. 32. Malign.Oedem. 33. Mäuseseptic. Schweinerothl. 34. Kaninchen-septic.

35. Hühnercholera. 36. Tauben-Diphtherie. 37. Objectträgercult. (verkl.) 38. Plattencultur. (verkl.)

Digitized by Google

Becker, Bacterien. L.Theochar, pinx. Verlag v. F.C.W. Vogel, Leipzig. Lith. Anst. v. J.G. Bach, Leipzig.

OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Digitized by Google

Neuer Verlag von F.C.W.VOGEL in Leipzig.

v. Ziemssen's Handbuch
der
Speciellen Pathologie und Therapie.
3. völlig umgearbeitete Auflage.

Zweiter Band.
Acute Infectionskrankheiten.

I. Theil. Malaria-Infectionen von Prof. H. Hertz in Amsterdam. — Typhus abdominalis, Pest und Gelbfieber v. Prof. C. v. Liebermeister in Tübingen.
Mit 8 Abbildungen. gr. 8. 1886. = 6 M. 80 Pf.

II. Theil. Cholera indica und Cholera nostras von Prof. M. J. Rossbach in Jena.
Mit 8 Abbildungen. gr. 8. 1886. = 5 M.

III. Theil. Dysenterie von Prof. O. Heubner in Leipzig. — Meningitis cerebrospinalis epidemica von Prof. H. v. Ziemssen in München. — Influenza, Heufieber, Denguefieber, Erysipelas von Prof. W. Zuelzer in Berlin.
gr. 8. 1886.

IV. Theil. Rückfallsfieber von Prof. M. J. Rossbach in Jena. — Fleckfieber. Pocken von Dr. H. Curschmann in Hamburg. — Varicellen, Masern, Rötheln, Scharlach von Prof. L. Thomas in Freiburg.
gr. 8. 1886.

V. Theil. Diphtherie von Prof. M. J. Oertel in München.

Dritter Band.
Chronische Infectionskrankheiten.

I. Theil. Syphilis von Prof. C. Bäumler in Freiburg.
Mit 5 Abbildungen. gr. 8. 1886. = 6 M.

II. Theil. Invasionskrankheiten von Prof. A. Heller in Kiel. — Zoonosen von Prof. O. Bollinger in München.
gr. 8. 1886.

—— Jeder Theil wird auch einzeln käuflich sein. ——

Vor Kurzem erschienen:

Zehnter Band.

Krankheiten der Weiblichen Geschlechtsorgane von Prof. Dr. C. SCHROEDER in Berlin. ***Siebente umgearbeitete Auflage.***
Mit 185 Abbildungen. gr. 8. 1886. = 10 M.
—— Solid halbfranz **gebunden** = 13 M. ——

Zwölfter Band. Anhang.

Die Störungen der Sprache. Versuch einer Pathologie der Sprache von Prof. Dr. A. KUSSMAUL in Strassburg. ***Dritte Auflage.***
gr. 8. 1885. = 6 M.

Sechzehnter Band.

Klinische Psychiatrie. Specielle Pathologie und Therapie der Geisteskrankheiten von Dr. H. SCHÜLE in Illenau. ***Dritte*** völlig umgearbeitete ***Auflage.***
Mit 3 Abbildungen. gr. 8. 1886. = 12 M.

Druck von J. B. Hirschfeld, Leipzig.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

YD 23360

179837

QR41
H8

BIOLOGY
LIBRARY
G

THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

Digitized by Google

Digitized by Google